

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



Ecologia alimentar do rolieiro (*Coracias garrulus*) numa zona agrícola extensiva

Ana Sofia Xavier Pereira Diniz Sampaio

Mestrado em Biologia da Conservação

Dissertação orientada por:

Doutora Teresa Catry (FCUL)

Professor Doutor José Pedro Granadeiro (FCUL)

2018

Agradecimentos

Expresso aqui a minha gratidão a todos aqueles que me acompanharam e contribuíram na realização e concretização desta tese. Cada um de vocês deixou a sua marca em mim, obrigada!

Em primeiro lugar quero agradecer à minha orientadora Teresa Catry pelo apoio e acompanhamento incansável ao longo deste ano, pela enorme paciência nas correções da tese e por me tentar transmitir calma em momentos de maior stress. Obrigada!

Ao meu coorientador e professor José Pedro Granadeiro, primeiro por acreditar em mim desde o início que lhe fui bater à porta e por mostrar-se pronto a ajudar em qualquer momento. Em segundo lugar, por ser um grande professor e por lecionar duas das cadeiras que eu mais gostei no mestrado.

Ao senhor Carlos Aguiar que me ajudou a dar os primeiros empurrões na identificação dos insetos e que, no meio do corredor do segundo piso do C2, se lembrou do nome de uma das espécies que mais apareceu nos regurgitos (*Amphimallon nigrum*) e me avisou prontamente.

Ao professor Artur Serrano, que me aturou nas visitas ao seu gabinete e pela grande ajuda a desvendar famílias de insetos que eu nunca pensei vir a conhecer.

À Mónica Silva, pelo acompanhamento durante o todo o processo de sexagem molecular dos rolieiros, pela paciência infindável e boa disposição!

Ao técnico Rodrigo Maia, pelo tempo que abdicou para me explicar todo o processo que envolve a quantificação de isótopos estáveis no laboratório.

Ao professor Rui Rebelo, por me ajudar na identificação das estruturas de réptil presentes nas regurgitações.

As *Atlantic Migrants* e *Tidal Wings*, por ouvirem as minhas apresentações sobre a primeira parte da tese, pelas críticas úteis e construtivas.

À Inês Catry, pela companhia no campo e por demonstrar ter um bom pulso a jogar matraquilhos.

It is highly unlikely that you will read this, but it would be unwise if I did not thank you, Kate, James, Osgur and Marta for the companionship in Castro Verde. Thank you for the movies, foosball and billiards, you were part of my journey.

Ao Gameiro, primeiro pela ajuda inicial ao facultar-me uma lista de softwares de análise de vídeo, o que me ajudou bastante. Em segundo lugar, pela companhia no trabalho de campo e por apreciar a minha playlist nas viagens de carro pelas estepes alentejanas! Obrigada por tudo! E já sabes, eu sou profissional a abrir portões de arame farpado, se quiseses ajuda com isso é só chamar!

Quero também agradecer ao pessoal do laboratório do quinto piso por me aturarem, ao Mameri por me fazer interessar pelo BORIS, pelas dicas de estatística e estar sempre lá para me encorajar. À Marie pela boa disposição, pelos conselhos e bons momentos de escalada. Ao Mr. Brightous e ao Março pelas dicas no Inglês. À Filipa e ao João Diogo por me terem lido a tese e percebido alguma coisa do que fiz, ao Fernando que esteve lá desde o início, sempre disposto a injetar doses letais de motivação e positividade a uma pessoa como eu. À Martina, que tal como eu, desespera quando pensa nas oportunidades de emprego em biologia. Ao Zé Pedro (Ramião) que me facultou a sua lista enorme de empresas de consultoria.

Ao pessoal do mestrado 2015/2016, obrigada pelos momentos que passámos juntos, às saídas de camp companheirismo. Foi realmente um ano brutal e vocês foram uma companhia extraordinária!

À Joana (Xafarica), Ricardo, Daniela, Inês e Susana pela amizade de longa data que não desvanece, pelos almoços alancharados e lanches ajantarados, pelas aventuras no campo, pela escalada e pelas conversas, gosto muito de vocês!

À minha avó Madalena e ao meu avô Horácio, que me pergunta sempre quando é que eu acabo a escola (está quase).

À minha mãe, obrigada por estares ao meu lado. Embora tenhamos as nossas diferenças, sei que só queres o melhor para mim. És a pessoa mais forte que eu conheço e tenho imenso orgulho em ti.

À minha fiel Paprika, que está comigo nos melhores e piores momentos e que, sem saber, me apoia imenso (até mesmo quando parte coisas lá em casa).

Por último quero agradecer ao meu pai, porque mesmo já não estando cá, faz parte de mim e é um dos grandes responsáveis pelo meu gosto e curiosidade pela natureza. Obrigada do fundo do meu coração!



Resumo

O habitat de estepe cerealífera é caracterizado por vastas extensões agrícolas de cultivo de cereal, terrenos recém-lavrados e de pousio em regime de rotatividade, ao qual está frequentemente associada a prática de pastoreio extensivo. Este tipo de habitat suporta uma grande variedade de espécies de aves com estatuto de conservação desfavorável. Ao longo das últimas décadas, têm-se registado alterações neste tipo de habitat devido à intensificação da agricultura nos terrenos mais produtivos e à alteração do uso do solo, o que acaba por afetar negativamente as populações de aves que dependem destes habitats.

O rolieiro *Coracias garrulus* Linnaeus, 1758 é uma ave migradora de longa distância que inverte em África e se reproduz na Europa nos meses de primavera e verão, maioritariamente em habitats de estepe cerealífera. Esta espécie está classificada com um estatuto global de “Pouco preocupante” pela UICN (União Internacional para a Conservação da Natureza), apesar das suas populações encontrarem-se fragmentadas e muitas delas em declínio. Em Portugal, esta espécie está classificada como “Criticamente em Perigo”.

O estudo da ecologia alimentar das espécies é essencial para perceber qual o papel das mesmas nos ecossistemas onde ocorrem. Por outro lado, a disponibilidade de alimento é um dos fatores determinantes para explicar a distribuição das espécies, sendo crucial conhecer os requisitos alimentares de forma a prever as respostas das espécies a alterações do habitat e delinear estratégias de gestão e conservação apropriadas. A dieta de muitas espécies apresenta variações importantes entre grupos de uma mesma população (grupos etários e entre sexos), no entanto, a grande maioria dos estudos com aves omite esta questão, em grande parte devido a dificuldades logísticas e metodológicas. No entanto, avaliar esta variabilidade é crucial para identificar potenciais ameaças para segmentos particulares de uma população.

Existe pouca informação sobre a ecologia alimentar do rolieiro, sendo o presente estudo o primeiro a investigar uma potencial segregação alimentar entre grupos diferentes da mesma população (adultos/crias e fêmeas/machos) e a quantificar taxas de visita ao ninho em período de alimentação de crias. Foram utilizadas três abordagens metodológicas na caracterização da dieta da espécie: análise de regurgitações de adultos, análise de vídeos de entregas de presas às crias e análise de isótopos estáveis de sangue de adultos (machos e fêmeas) e crias. Esta última técnica permite detetar potenciais diferenças na dieta entre machos e fêmeas, ao contrário da análise de regurgitações. Para caracterizar os padrões e quantificar as taxas de visita ao ninho durante o período de alimentação das crias foram efetuados vídeos de longa duração com o auxílio de câmaras *timelapse*.

Os resultados deste estudo evidenciaram uma segregação na dieta entre adultos e crias de rolieiro, dominada por coleópteros (escaravelhos) e por ortópteros (gafanhotos), respetivamente. De um modo geral, estes resultados foram corroborados pelas diferentes abordagens metodológicas utilizadas. A segregação alimentar entre os grupos etários poderá dever-se ao facto dos gafanhotos serem mais abundantes durante o período de desenvolvimento das crias e/ou os adultos selecionarem preferencialmente as presas de maior tamanho e maior conteúdo energético para as suas crias, minimizando assim o número de visitas ao ninho.

A semelhança nas assinaturas isotópicas de carbono e azoto de machos e fêmeas sugerem que não existe segregação sexual no regime alimentar do rolieiro, apesar dos machos alimentarem as fêmeas no período de pré-postura. No entanto, os resultados sugerem que as fêmeas poderão ter uma dieta mais diversa, uma vez que apresentam um nicho isotópico mais amplo do que os machos.

A taxa de visita aos ninhos por parte dos progenitores durante o período de alimentação das crias foi usada como *proxy* para a taxa de entregas de alimento. Não se verificou um padrão típico geral nas frequências de visita ao longo do dia, tendo-se registado grande variabilidade entre ninhos e no mesmo ninho entre dias de amostragem. Os rolieiros alimentam as suas crias ao longo de todo o período diurno, não existindo um período preferencial de maior atividade. Verificou-se que os progenitores aumentam a frequência de visita com o tamanho da ninhada, no entanto, o número de entregas por cria tende a diminuir em ninhadas de maior dimensão. Por fim, não se observou uma influência da idade das crias nas taxas de visita.

Este estudo permitiu aprofundar o conhecimento sobre a ecologia alimentar desta espécie, revelando a existência de segregação na dieta entre adultos e crias.

Palavras-chave: segregação, filmagens; regurgitações; isótopos estáveis; taxa de alimentação.

Abstract

The cereal steppe habitat is characterized by vast agricultural extensions of cereal crops, ploughed land and fallows in a traditional crop rotation regime, often associated with the practice of extensive grazing. This type of habitat supports a wide variety of bird species with unfavourable conservation status. In the last decades, changes have occurred in this type of habitat due to agricultural intensification in the most productive lands and land-use change, negatively affecting bird populations.

The European Roller *Coracias garrulus* Linnaeus, 1758 is a long-distance migrant, wintering in Africa and travelling to Europe in early spring for reproduction, mainly in areas dominated by cereal steppe habitat. This species is classified as “Least Concern” by the IUCN, although its populations are declining and fragmented. In Portugal, it is classified as “Critically Endangered”.

Knowledge on foraging ecology is crucial for understanding the roles played by species in the ecosystems where they occur. Moreover, food availability is one of the major limiting factors shaping species distributions. Thus, it is critical to know the dietary requirements of species to predict their behavioural responses to habitat change and subsequently delineate appropriate management and conservation strategies. In several bird species, different groups within the same population show differences in diet composition (namely, between age group and sexes). Therefore, it is critical to evaluate these differences to identify potential threats to particular groups within a population.

There is little information regarding the foraging ecology of the European Roller. Indeed, the present study is the first one investigating a potential diet segregation between different groups of the same population (adults/chicks and females/males) and nest visitation rates by adults during the chick-rearing period. Three complementary methodological approaches were used to characterize the diet of this species: adult pellet analysis, parent-offspring food delivery analysis with video recording, and stable isotope analysis of adult and chick blood. To estimate nest visitation rates of rollers, time-lapse video cameras were used during the chick-rearing period.

Results from this study revealed a dietary segregation between adults and chicks: the diet of adults was dominated by coleopterans (beetles) and the diet of chicks comprised mostly orthopterans (grasshoppers and bush crickets). In general, these findings were corroborated by the different methodological approaches used in this study. Dietary segregation between age groups can be explained by the higher availability of grasshoppers during the chick-rearing period and/or by the preference of adults to feed their chicks with larger and higher quality prey, minimizing the number of nest visits.

Similarities found in carbon and nitrogen stable isotopic signatures between males and females suggested a lack of sexual segregation in their feeding regime. However, the results revealed that females could be feeding on a larger diversity of prey than males, as they show a wider isotopic niche.

Nest visitation rates during the chick-rearing period were used as proxy for feeding deliveries to the nestlings. Results from video analysis do not show a general typical pattern in visit frequency throughout the day and depict high variability between nests and between sampling days within the same nest. European Rollers feed their chicks along the diurnal period and do not exhibit a preferential activity period. The frequency of nest visits was higher in larger clutches, however, the number of visits per chick tends to decrease in nests with larger clutches. Visitation rates were not affected by nestling age.

This study provides a deep understanding on the foraging ecology of the European Roller and new information about its diet, revealing a dietary segregation between adults and chicks.

Keywords: segregation; video; pellet analysis; stable isotope analysis, feeding rates.

Índice

| | |
|--|----|
| 1. Introdução..... | 1 |
| 2. Métodos..... | 4 |
| 2.1 Área de estudo..... | 4 |
| 2.2 Análise das regurgitações de aves adultas..... | 5 |
| 2.3 Registo vídeo de alimentação de crias para determinação da dieta..... | 6 |
| 2.4 Análise de isótopos estáveis..... | 6 |
| 2.5 Registo vídeo de padrões diários e taxa de alimentação das crias..... | 9 |
| 2.6 Sexagem molecular..... | 10 |
| 3. Resultados..... | 11 |
| 3.1 Caraterização da dieta dos adultos com base na análise de regurgitações..... | 11 |
| 3.2 Caraterização da dieta de crias através de registo vídeo..... | 17 |
| 3.3 Caraterização da dieta de adultos e crias através da análise de isótopos estáveis (SIA)..... | 17 |
| 3.3.1. Segregação sexual e etária..... | 17 |
| 3.3.2. Variação temporal..... | 18 |
| 3.3.3 Composição da dieta..... | 19 |
| 3.3.4. Nichos isotópicos..... | 20 |
| 3.4 Padrões de visitação ao ninho e taxa de alimenta o das crias..... | 22 |
| 4. Discussão..... | 25 |
| 5. Considera es finais..... | 28 |
| 6. Referências bibliográficas..... | 29 |
| 7. Anexos..... | 35 |

Lista de tabelas, figuras e anexos

Tabelas

| | |
|--|-------|
| Tabela 2.4.1. Presas potenciais de rolieiro incluídas no modelo SIAR..... | 8 |
| Tabela 3.1.1 Frequência de ocorrência (FO%) e frequência numérica (FN%) de presas encontradas em 84 regurgitações de rolieiro nos anos de 2013 e 2016. Sempre que possível, foi incluída informação sobre a biomassa individual (média e desvio padrão) das presas (expressa em gramas (g)). Para as espécies/grupos taxonômicos sem dados de biomassa da área de estudo é apresentada a fonte bibliográfica de onde foi retirado o valor da estimativa. NI = não identificado..... | 15;16 |
| Tabela 3.2.1. Frequência numérica de presas entregues às crias identificadas em vídeo..... | 17 |
| Tabela 3.3.1. Valores médios (\pm desvios padrão) das assinaturas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em machos, fêmeas e crias de rolieiro. O tamanho da amostra é apresentado entre parêntesis. | 17 |
| Tabela 3.3.2. Nicho isotópico em rolieiros adultos (machos e fêmeas) e crias estimados através das áreas de diferentes elipses: SEA (área da elipse standard), SEA _C (área da elipse standard corrigida) e SEA _B (área da elipse Bayesiana) e respectivos intervalos de credibilidade..... | 20 |

Figuras

| | |
|--|----------|
| Figura 2.1.2. Mapa da área de estudo com a localização dos locais de nidificação de rolieiro amostrados. A área a branco representa o concelho de Castro Verde e a Zona de Proteção Especial de Castro Verde está representada pela área às riscas..... | 4 |
| Figura 3.1.1. Curva de acumulação das diferentes presas encontradas em regurgitações de rolieiro nos anos de 2013 e 2016. A linha contínua define a curva de acumulação média e a linha tracejada descreve os intervalos de confiança de 95%. | 11 |
| Figura 3.1.2 Variação temporal no número de indivíduos (por regurgitação) das presas mais frequentes na dieta de rolieiros adultos. As linhas representam a variação estimada da abundância das espécies no decorrer do período de amostragem de 2013 (preto) e 2016 (cinzento)..... | 12;13;14 |
| Figura 3.5.1. Variação temporal nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ em sangue de rolieiro (35 adultos e 15 crias). A linha a preto representa a relação linear positiva entre o $\delta^{13}\text{C}$ do sangue dos adultos e a data. A data é representada pelo número de dias desde o dia 1 de janeiro de 2016 e foi corrigida para 15 dias antes do dia de amostragem de forma a representar a data de integração do sinal isotópico no sangue (ver métodos). | 18 |
| Figura 3.3.2. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ no sangue de rolieiros adultos (machos e fêmeas) e crias, e (média \pm desvio padrão) das suas presas potenciais (Bub: <i>Bubas bison</i> ; Gryll: <i>Gryllotalpa</i> sp.; Chryso: <i>Chrysolina bankii</i> ; Carab: <i>Carabus rugosus</i> ; Acrid: Acrididae NI; Dect: <i>Decticus albifrons</i> ; Sepi: <i>Sepidium</i> sp.; Ptero: <i>Pterostichus globosus ebenus</i> ; Amphi: <i>Amphimallon nigrum</i> ; Silp: <i>Silpha</i> sp.; Prota: <i>Protaetia morio</i>) | 19 |
| Figura 3.3.3. Contribuição relativa de diferentes presas (ou grupo de presas) na dieta de rolieiros adultos (período de postura e incubação) e crias. As caixas representam os intervalos de credibilidade de 50, 75 e 95%. Os pontos representam a mediana..... | 20 |
| Figura 3.3.4. Áreas dos nichos isotópicos de rolieiros adultos (cinzento) e crias (preto) estimados pela elipse standard (SEA, incluindo 95% dos dados; linha tracejada) e pela elipse standard corrigida (SEAC, incluindo 40% dos dados; linha contínua)..... | 21 |
| Figura 3.3.5. Áreas dos nichos isotópicos de rolieiros adultos (fêmeas/machos) estimados pela elipse standard (SEA, incluindo 95% dos dados; tracejada) e pela elipse standard corrigida (SEAC, incluindo 40% dos dados; linha contínua)..... | 21 |
| Figura 3.5.1. Número de visitas em cada ninho standardizado para o número de crias de cada ninhada. O valor médio de visitas está representado a tracejado. | 22 |

| | |
|---|----|
| Figura 3.5.2. Padrões diários de visitação ao ninho standardizado por cria. Os limites da caixa de bigodes representam o primeiro e terceiro quartil, a barra a negrito representa a mediana. As cruces representam a média. | 22 |
| Figura 3.5.3. Proporção de visitas com entrega de alimento (S) em relação a todas as visitas (S +N) para todos os ninhos (n=20) ao longo do dia. As entregas potenciais foram excluídas. As caixas de bigodes representam o primeiro e terceiro quartil, a negrito está representada a mediana. | 23 |
| Figura 3.5.4. Número de visitas por ninho por dia relativamente ao número de crias na ninhada. | 23 |
| Figura 3.5.5. Número total de visitas ao ninho por cria em relação a dois grupos de tamanho de ninhada. Em ambos os grupos o tamanho amostral é de 10 ninhos. | 24 |

Anexos

| | |
|---|-------|
| Anexo 2.2.1. Número de regurgitações recolhidas e respetiva localização. | 335 |
| Anexo 2.2.2. Presas potenciais recolhidas em 2016 e 2017 para posterior estimativa de biomassa. | 35 |
| Anexo 2.3.1. Ninhos amostrados para determinação da dieta das crias e a sua localização. | 35 |
| Anexo 2.6.1. Eletroforese de DNA amplificado em gel de agarose. Na primeira <i>lane</i> está apresentada uma escada com bandas de comprimento conhecido, na segunda <i>lane</i> o negativo e nas restantes as amostras com os genes CHD1Z e CHD1W amplificados. A seta a tracejado indica a direção da corrida. | 36 |
| Anexo 3.5.1 Padrões de visitação (número de visitas por cria e por hora) diários ao ninho por rolieiros adultos durante o período de alimentação das crias. Para cada ninho foram efectuados dois dias de amostragem. | 37;38 |

1. Introdução

Em todo o mundo, a agricultura modificou profundamente a paisagem, mas nesse processo foi também criando habitats artificializados que atualmente suportam importantes comunidades de aves (Shrubb, 2012). No entanto, a crescente intensificação da agricultura e o abandono das práticas agrícolas tradicionais ameaçam agora também estes “habitats artificiais”, de tal modo que as aves associadas a ecossistemas agrícolas são o grupo que registou, nas últimas décadas, maiores declínios populacionais em toda a Europa (Gregory *et al.*, 2007).

O habitat de estepe cerealífera (também designado por pseudo-estepe) cobre 26% da superfície da União Europeia (Henle *et al.*, 2008) e suporta uma grande variedade de espécies de aves com estatuto de conservação desfavorável (Pain e Pienkowski, 1997). Em Portugal, as estepes cerealíferas estão localizadas maioritariamente no Baixo Alentejo, tendo um grande predomínio nas zonas de Castro Verde, Mértola, Beja-Cuba e Moura. Nestas zonas ocorrem espécies residentes altamente dependentes deste tipo de habitat, tais como a abetarda *Otis tarda* (Linnaeus, 1758), o alcaravão *Burhinus oedipnemus* (Linnaeus, 1758), a calhandra-real *Melanocorypha calandra* (Linnaeus, 1766), o cortiçol-de-barriga-branca *Pterocles alchata* (Linnaeus, 1766), o cortiçol-de-barriga-preta *Pterocles orientalis* (Linnaeus, 1758) e o sisão *Tetrax tetrax* (Linnaeus, 1758). Também são um habitat importante para alimentação de aves migradoras invernantes como o grou *Grus grus* (Linnaeus, 1758) e para a reprodução de aves estivais como o peneireiro-das-torres *Falco naumanni* (Fleischer, 1818), o tartaranhão-caçador *Circus pygargus* (Linnaeus, 1758) e o rolieiro *Coracias garrulus* Linnaeus, 1758 (Cabral *et al.*, 2006).

O habitat de estepe cerealífera é caracterizado por vastas extensões agrícolas de cultivo de cereal, terrenos recém-lavrados e de pousio em regime de rotatividade, ao qual está frequentemente associada a prática de pastoreio extensivo (Tucker, 1997). Este sistema está disposto num mosaico rotacional criado pelo Homem há cerca de 10 000 anos (Bouma, Varallyay e Batjes, 1998), no entanto, assemelha-se ao habitat de estepe natural. Através da herbivoria, o gado mantém uma composição herbácea pouco desenvolvida, acabando por desempenhar o mesmo papel que os grandes herbívoros produzem na estruturação das estepes naturais (Ribeiro *et al.*, 2014). Este processo facilita a colonização de aves adaptadas a este tipo de ambiente.

Ao longo das últimas décadas, têm-se registado alterações neste tipo de habitat devido à intensificação da agricultura nos terrenos mais produtivos e à alteração do uso do solo (Wolff *et al.*, 2002). A transformação do mosaico existente em monoculturas florestais (tais como pinhais e eucaliptais), o sobrepastoreio, a utilização de agroquímicos e o abandono dos terrenos menos produtivos resultam na perda e degradação do habitat (Donald, Green e Heath, 2001) (e na diminuição do número e acessibilidade das presas das aves (Catry *et al.*, 2011a)). Em consequência disso, e apesar da implementação de medidas de gestão em algumas áreas, como as medidas agroambientais introduzidas no âmbito da Política Agrícola Comum (PAC), várias espécies de aves estepárias encontram-se em declínio acentuado, enquanto outras viram a sua área de distribuição reduzida significativamente (Donald, Green e Heath, 2001).

O rolieiro *Coracias garrulus* é uma ave migradora de longa distância (Kovacs *et al.*, 2008) que pertence à ordem dos Coraciiformes. Esta espécie é representada por duas subespécies, uma que ocorre na Europa e que se reproduz desde Marrocos, sudoeste e centro-sul da Europa até ao extremo oeste do continente asiático (*C. g. garrulus*), e outra (*C. g. semenowi* Loudon e Tschusi, 1902) que ocorre desde o Irão até ao nordeste da China. Estima-se que existam entre 100 a 220 mil indivíduos na Europa (BirdLife International, 2017). Esta espécie está classificada com um estatuto de “Pouco preocupante” pela UICN (União Internacional para a Conservação da Natureza), apesar das suas populações encontrarem-se fragmentadas e muitas delas em declínio. Em Portugal, esta espécie está classificada como “Criticamente em Perigo” (Livro vermelho dos vertebrados de Portugal, 2006).

O rolieiro inverte em África, sendo que as populações que se reproduzem em Portugal e no sul de Espanha realizam o seu percurso migratório pela costa ocidental Africana, efetuando pequenas paragens nos países subsarianos e voando depois pelas florestas equatoriais tropicais. O seu destino de inverno são regiões de planícies e savanas em Angola (Catry *et al.*, 2014), Namíbia, Zâmbia, Botsuana e República Democrática do Congo (Rodríguez-Ruiz *et al.*, 2014). As populações que se reproduzem na região centro-sul, este da Europa e extremo oeste da Ásia, também invernam em África, mas atravessam diretamente o deserto do Saara pela Argélia e Líbia, ou pelo Egito. Nos meses de primavera, entre março e abril, o rolieiro retorna às áreas de reprodução.

O rolieiro nidifica preferencialmente em habitats agrícolas abertos (Catry *et al.*, 2014), mas em determinadas áreas da sua distribuição também nidifica em florestas com clareiras próximas desses habitats (Sosnowski e Chmielewski, 1996). Em Portugal, a área com maior densidade populacional de rolieiros é a Zona de Proteção Especial (ZPE) de Castro Verde, compreendendo entre 64 a 70 casais reprodutores (Catry *et al.*, 2011b), o equivalente a mais de 90% da população nacional (I. Catry, com. pess.). É uma área caracterizada por um regime de rotatividade bem marcado e com extensos terrenos de pousio. Existem também alguns casais dispersos noutras áreas com habitat semelhante (Catry *et al.*, 2011b). Os rolieiros nidificam em cavidades pré-existent (Bouvier, 2014), tais como buracos nas árvores construídos por outras espécies de aves, fissuras em paredes rochosas, casas abandonadas, bem como em caixas ninho. Na região de Castro Verde existem diversos ninhos em paredes construídas no âmbito de projetos de conservação desta espécie (Catry *et al.*, 2011a).

O rolieiro caça a partir de poisos, sendo comumente observado em postes e linhas elétricas, ramos de árvores e cercas (Fry, Fry e Harris, 2010, Catry *et al.*, 2016a). Esta espécie é essencialmente insetívora, podendo também alimentar-se de pequenos roedores, anfíbios e répteis (Cassola e Lovari, 1979). Os estudos de dieta desta espécie apoiam-se na análise de regurgitações e de fezes de indivíduos adultos (Sosnowski e Chmielewski, 1996), de conteúdos não digeridos encontrados em caixas ninho (Cassola e Lovari, 1979) e de colares retentores de presas colocados nas crias (Avilés e Parejo, 1997).

A disponibilidade de alimento é um fator limitante nas populações de aves (Newton, 2002) sendo fundamental aquando da seleção de habitat (Martin, 1987). Desta forma, o estudo da ecologia alimentar é crucial para determinar os requisitos ecológicos das espécies de maneira a perceber e prever as respostas das mesmas a alterações do habitat e assim guiar potenciais medidas de conservação. Estes requisitos ecológicos, espelhados por exemplo na composição da dieta, podem variar consideravelmente entre grupos de uma mesma população, nomeadamente entre indivíduos de diferentes sexos e idades, sendo a segregação uma forma de reduzir a competição intraespecífica (Bolnick *et al.*, 2003). É assim importante identificar as diferenças ao nível intraespecífico de forma a determinar as potenciais ameaças para segmentos populacionais particulares. Para além disso, estudos anteriores demonstraram que a medição das taxas de alimentação das crias permite obter uma maior compreensão das estratégias alimentares dos indivíduos, avaliar a qualidade do habitat e ainda identificar quais os fatores que afetam o esforço parental na alimentação das crias e, potencialmente, o sucesso reprodutor (Nour *et al.*, 1998).

Na caracterização da dieta das aves são utilizados vários métodos, tais como (1) a análise de fezes e de regurgitações, sendo possível identificar as presas através dos conteúdos não digeridos (p.e. ossos, pelos e quitina) (Errington, 1930); (2) a observação direta do comportamento alimentar, uma técnica importante no caso de certas espécies de aves granívoras que retiram as cápsulas das sementes (impossibilitando a identificação por meio de análise de regurgitação) ou em espécies que se alimentam de presas sem estruturas não digeríveis (Price, 1987); (3) os colares retentores de presas em crias (Moreby e Stoate, 2000); (4) a análise de vídeo de entregas de alimento a crias (Lewis, Fuller e Titus, 2004); (5) a análise de conteúdos estomacais por regurgitação forçada (Zduniak, 2005); entre outras. Uma das abordagens crescentemente utilizadas nos estudos de ecologia alimentar é a análise de isótopos estáveis, em particular do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e do azoto ($\delta^{15}\text{N}$). Os isótopos são átomos de um mesmo elemento químico que diferem na sua massa atómica devido a um diferente número de neutrões na

constituição dos seus núcleos. Ao contrário dos restantes isótopos, os isótopos estáveis não sofrem decaimento radioativo, portanto não se convertem noutros elementos (Friedlander, 1981). A abundância desses isótopos poderá ser medida experimentalmente e é expressa numa proporção relativamente ao isótopo mais abundante de um dado elemento. As razões isotópicas nos tecidos dos consumidores refletem a sua dieta durante o período de síntese desses mesmos tecidos (Hobson, Alisauskas e Clark, 1992). De facto, as razões isotópicas variam ao longo dos diferentes níveis tróficos na cadeia alimentar de uma forma relativamente previsível, sendo geralmente possível determinar a dieta de uma espécie ou indivíduo se forem conhecidas também as assinaturas isotópicas das suas presas potenciais. No que respeita ao carbono, o rácio de $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ é relativamente constante ao longo da cadeia trófica, no entanto pode ser utilizado para identificar as fontes de carbono quando as assinaturas das fontes são distintas entre si (Layman *et al.*, 2012). O azoto é frequentemente utilizado para estimar a posição trófica de espécies ou indivíduos, considerando que os valores de um consumidor são geralmente enriquecidos em 3 a 4‰ em $\delta^{15}\text{N}$ relativamente às suas presas (Deniro e Epstein, 1981).

Cada tipo de abordagem metodológica tem vantagens e limitações, tanto ao nível da qualidade da informação obtida, como da sua aplicabilidade em diferentes situações, ou seja, diferentes espécies e/ou grupos populacionais, épocas do ano, tipos de habitat, etc). Por exemplo, a partir da análise de regurgitações é possível identificar e quantificar as presas com bastante precisão. A análise de isótopos estáveis não é uma abordagem tão específica como a anterior, mas origina estimativas da assimilação de um tipo de presa e não apenas da sua ingestão (Gannes, O'Brien e del Rio, 1997). Por conseguinte, a utilização simultânea de várias metodologias complementares é frequentemente a melhor forma de garantir uma visão completa e não-enviesada da dieta de uma espécie.

Assim, este estudo tem como objetivo principal estudar a ecologia alimentar do rolieiro no período reprodutor numa paisagem de agricultura extensiva no sul de Portugal. Os objetivos específicos incluem:

- (i) Caraterizar a dieta do rolieiro e investigar a sua variação em relação a fatores tais como o sexo, a idade (crias e adultos), utilizando diferentes abordagens metodológicas.
- (ii) Caraterizar os padrões de atividade de alimentação das crias (taxas de alimentação e picos de atividade) e identificar potenciais fatores de variação nestes padrões.

2. Métodos

2.1 Área de estudo

Este estudo foi realizado na ZPE de Castro Verde, Baixo-Alentejo, Portugal (37°41'51.49"N, 8° 5'8.69"W; **Figura 2.1.1.**). Esta área é caracterizada por uma paisagem de cultivo extensivo de cereal de baixa intensidade em regime de rotatividade. Os terrenos são cultivados durante 2 anos, seguidos de 3 a 5 anos de pousio. A terra é arada e cultivada entre os meses de setembro e novembro e os cereais são colhidos desde maio até julho (Catry, Franco e Moreira, 2014).

Este estudo decorreu nas épocas de reprodução de 2013, 2016 e 2017 e abrangeu 25 locais de nidificação, encontrando-se distribuídos em toda a área de ocorrência da espécie na ZPE. O número de casais de rolieiro em cada local variou entre 1 e 3.

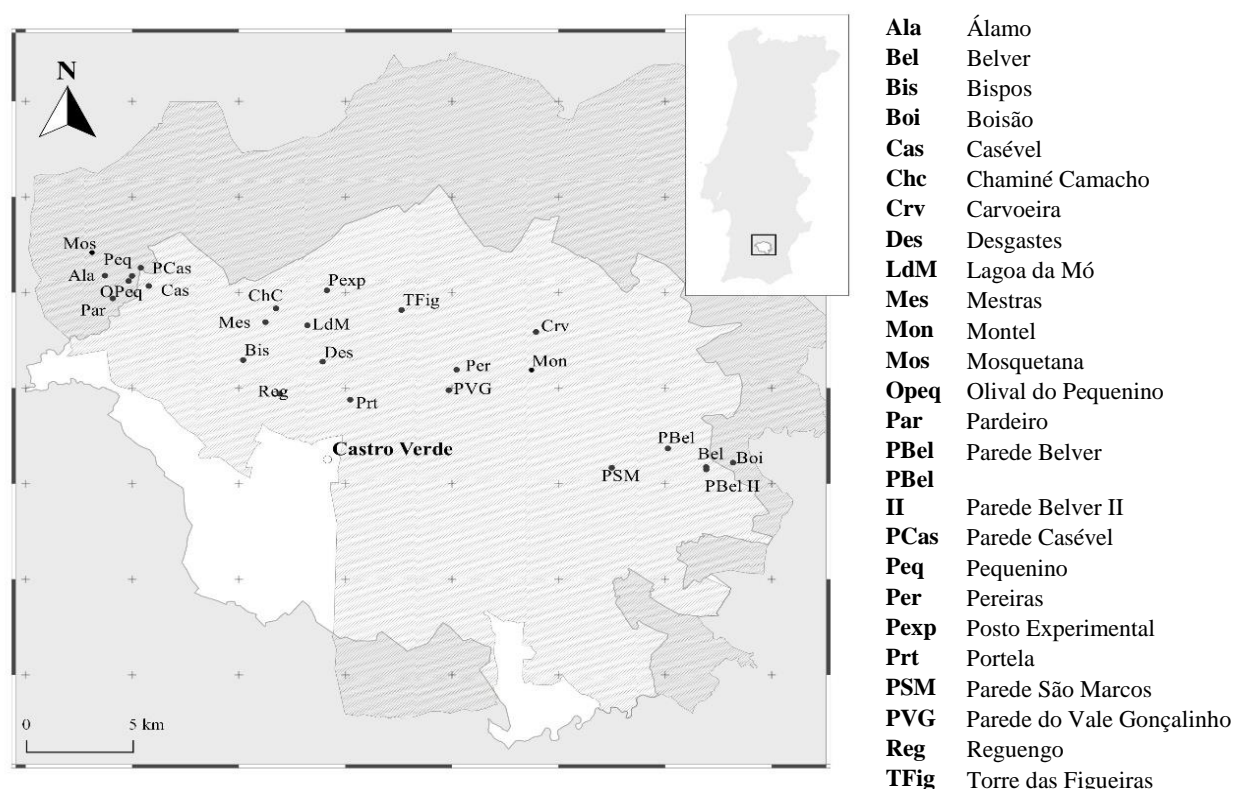


Figura 2.1.1. Mapa da área de estudo com a localização dos locais de nidificação de rolieiro amostrados. A área a branco representa o concelho de Castro Verde e a Zona de Proteção Especial de Castro Verde está representada pela área às riscas.

2.2 Análise das regurgitações de aves adultas

Uma vez que os rolieiros produzem regurgitações compostas pelas partes rígidas, não digeridas, das suas presas (Tucker, 1944), recorreu-se à análise de regurgitações espontâneas para determinar a composição da dieta de rolieiros adultos. Foram recolhidas 84 regurgitações em 18 locais de nidificação (**Anexo 2.2.1**), 50 durante o período de 13 de abril e 24 de junho de 2013 e 34 regurgitações entre 29 de abril e 12 de junho de 2016. As recolhas foram feitas em visitas regulares (semanais) aos locais de nidificação, e cada amostra foi armazenada individualmente num saco de plástico, com a informação do local e data de colheita.

No laboratório, as regurgitações foram desagregadas em pequenos fragmentos e analisadas com uma lupa binocular. Com o auxílio de uma coleção de referência própria e através da consulta a especialistas, foram identificadas as presas presentes nas regurgitações até ao mais baixo nível taxonómico possível. As partes das presas utilizadas na identificação dos Artrópodes foram cabeças, pronotos, élitros, tíbias anteriores escavadoras, mandíbulas e cercos de dermápteros. A quantificação foi feita com base no número máximo de pronotos, de cabeças ou no número máximo de estruturas pares do mesmo lado (esquerda/ direita): tíbias anteriores escavadoras, mandíbulas e cercos.

De maneira a obter estimativas de biomassa das presas foram recolhidos na área de estudo em 2016 e 2017 vários invertebrados considerados presas potenciais (**Anexo 2.2.2**). Estes exemplares foram congelados após a captura. No laboratório, os indivíduos foram colocados numa estufa a 60°C durante 48 horas e posteriormente foi medido o seu peso seco utilizando uma balança de precisão (0.0001g).

Para obter os valores de biomassa de espécies/grupos taxonómicos identificados nas regurgitações e que não foram coletadas durante o período de trabalho de campo recorreu-se a pesquisa bibliográfica.

Para caracterizar a composição da dieta dos rolieiros adultos foram estimadas as frequências de ocorrência (FO) e numérica (FN) para cada espécie/grupo taxonómico. A frequência de ocorrência é dada pela razão entre o número de regurgitações em que uma determinada espécie/grupo taxonómico ocorre e o número total de regurgitações analisadas. A frequência numérica é calculada como a razão entre o número de presas de uma espécie/ grupo taxonómico e o número total de presas em todas as regurgitações.

Utilizou-se o pacote “vegan” (Oksanen *et al.*, 2017) do *software* R para criar uma curva de acumulação para cada ano de amostragem, de forma a avaliar se o tamanho amostral (número de regurgitações) foi suficiente para estimar o número total de espécies/grupos taxonómicos presentes na dieta de rolieiro na área amostrada. Os indivíduos não identificados não foram incluídos nesta análise.

Com o objectivo de detetar potenciais variações sazonais na composição da dieta dos rolieiros adultos nos dois anos amostrados, foram desenvolvidos modelos lineares generalizados (com a família de distribuição de erro *Quasipoisson*) nos grupos de presa com frequência de ocorrência superior a 30% (e também no grupo dos Orthoptera), sendo o número de indivíduos em cada regurgitação a variável dependente e a data de colheita da regurgitação, dias e anos como variáveis independentes.

2.3 Registo vídeo de alimentação de crias para determinação da dieta

Para investigar a composição da dieta de crias de rolieiro foram utilizadas filmagens das entregas de alimento feitas pelos progenitores. As filmagens abrangeram crias com idades compreendidas entre os 3 e os 23 dias, sendo que as crias saem do ninho com aproximadamente 20-22 dias (Václav, Calero-Torralbo & Valera, 2008).

Foram utilizadas câmeras UNOTEC® *SherLock Spy* (dimensões: 4.9 x 3 x 1 cm) com uma resolução de vídeo de 720x480 *pixels* a 30 *frames* por segundo (FPS), equipadas com uma bateria de lítio extra de 250 mAh e com um cartão de memória de 8 GB. As câmeras foram colocadas a uma distância de aproximadamente 2 metros da entrada de cada ninho, de forma a minimizar a perturbação. As filmagens foram efetuadas em diferentes períodos do dia e tiveram uma duração média de 2.11 ± 0.63 horas.

As filmagens decorreram no período de 1 de junho a 9 de julho de 2016 e abrangeram 19 ninhos distribuídos por 13 locais de nidificação, tendo sido alguns ninhos filmados mais do que uma vez (**Anexo 2.3.1**).

A análise das gravações vídeo foi levada a cabo com o *software* BORIS (*Behavioral Observation Research Interactive Software*) (Friard e Gamba, 2016), tendo sido registadas as entregas de alimento. As presas foram classificadas como “Orthoptera Acrididae”, “Orthoptera Tetigoniidae”, “Orthoptera não-identificado”, “Não-Orthoptera não-identificado”, “Coleoptera”, “Gastropoda” e “Não-identificado”.

Foram calculadas as frequências numéricas das espécies identificadas.

2.4 Análise de isótopos estáveis

Para caracterizar diferenças na composição da dieta entre aves adultas de diferentes sexos e classes etárias (adultos no período de incubação *versus* crias), recorreu-se à análise de isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e azoto ($\delta^{15}\text{N}$) no sangue. Utilizaram-se estes dados também para investigar potenciais variações temporais na dieta de rolieiros adultos.

Em 2016, durante o período de incubação (9 de maio a 1 julho), foram capturadas 35 aves adultas no ninho. Estas aves foram anilhadas e foi retirada uma amostra de sangue (cerca de 150 μl) da veia braquial. Foram também amostradas 15 crias (de 15 ninhos diferentes) com idade superior a 10 dias entre 15 de maio e 29 de junho. As amostras de sangue foram colocadas em *ependorfs* individuais. Num período inferior a três horas após a colheita, as amostras foram centrifugadas durante 10 min (3400 rotações por minuto), para separar o plasma das células vermelhas. As amostras foram posteriormente congeladas. Apenas as células vermelhas foram analisadas e utilizadas neste estudo. Com base na relação alométrica entre o *turnover* isotópico e a massa corporal de uma ave (Hobson e Wassenaar, 2008) podemos estimar que os isótopos de carbono e azoto têm uma semi-vida (tempo necessário para reduzir o seu valor inicial para metade, após uma mudança de dieta) de aproximadamente 15 dias nas células vermelhas de rolieiro. Assim, a informação recolhida diz respeito a uma janela temporal de cerca de 15 dias antes do momento de amostragem, sendo representativa dos indivíduos adultos do período de postura e incubação.

A análise de isótopos estáveis foi também utilizada para caracterizar a dieta de rolieiro. Assim, em paralelo com a amostragem de sangue, procedeu-se à captura de presas potenciais desta espécie (invertebrados), identificadas com base em presas encontradas junto aos ninhos. No laboratório, com auxílio de pinças os artrópodes foram dissecados e retirados os tecidos moles, para posterior análise de isótopos estáveis.

Todas as amostras de células vermelhas (doravante designadas genericamente por sangue) e de invertebrados foram colocadas numa estufa a uma temperatura de $\approx 50^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas e após estarem secas, procedeu-se à moagem das mesmas.

Uma vez que os tecidos das presas podem ter um conteúdo lipídico elevado e que os lípidos são empobrecidos em $\delta^{13}\text{C}$ em relação aos restantes tecidos (Ponsard e Ardit, 2000), foi efetuada a deslipidificação destas amostras. Para tal, as amostras foram imersas numa solução de Clorofórmio/Metanol (2:1), agitadas durante 30 segundos e deixadas a repousar durante 30 minutos. De seguida, foram centrifugadas durante 10 minutos a 3400 rpm e removido o sobrenadante com o conteúdo lipídico. Este procedimento foi repetido até o sobrenadante se apresentar incolor (Logan *et al.*, 2008). Por fim, as amostras foram colocadas novamente na estufa durante 24 horas a uma temperatura de 50°C . Utilizando uma balança de precisão pesou-se entre 0.9 e 1.0 mg de cada amostra, tendo estas subamostras sido posteriormente encapsuladas em cápsulas de estanho.

As razões $\delta^{13}\text{C}/\delta^{12}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}/\delta^{14}\text{N}$ foram determinadas por espectrometria de massa de razão de isótopos estáveis em modo de fluxo contínuo (CF-IRMS) (Preston e Owens, 1983), num espectrómetro de massas *Sercon Hydra 20-22* (Sercon, Reino Unido), acoplado a um Analisador Elementar *EuroEA* (*EuroVector*, Itália), que efetua a preparação automática das amostras por combustão de Dumas. Foram utilizados os materiais de referência Sorghum Flour Standard OAS (*Elemental Microanalysis*, UK) e IAEA-N1 (IAEA, Vienna, Austria) nas determinações da razão isotópica de Azoto e de Carbono; os valores de $\delta^{13}\text{C}$ apresentam-se na escala determinada pelo *PeeDee Belemnite* (PDB), enquanto os valores de $\delta^{15}\text{N}$ se reportam ao Ar atmosférico. A precisão das análises, calculada a partir da análise de 6 a 9 réplicas de padrões de laboratório, intercaladas em cada conjunto de análises, foi igual ou inferior a 0.2‰.








As variáveis $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ foram testadas quanto à normalidade utilizando o teste estatístico *Shapiro-Wilk* e quanto à homogeneidade de variâncias recorrendo ao teste de *Levene* nos grupos dos machos ($n=15$) e das fêmeas ($n=20$).

Diferenças nas assinaturas isotópicas dos rolieiros entre sexos (indivíduos adultos) foram avaliadas com teste *t-Student* para o $\delta^{13}\text{C}$ e o teste Mann–Whitney U para o $\delta^{15}\text{N}$. De forma a avaliar diferenças nas assinaturas isotópicas entre membros de um mesmo casal ($n=13$ casais), foi aplicado um teste *t-Student* emparelhado para o $\delta^{13}\text{C}$ e Mann–Whitney U de amostras emparelhadas para o $\delta^{15}\text{N}$.

Para caracterizar a variação temporal das assinaturas isotópicas dos adultos ao longo do período de reprodução foram usadas regressões lineares simples.

Com o objetivo de estimar a contribuição de cada presa potencial para a dieta dos rolieiros (adultos e crias) foram efetuados modelos mistos Baesianos, utilizando o pacote SIAR (Stable Isotope Analysis in R) no software R (Parnell *et al.*, 2008). Nestes modelos são incorporadas as assinaturas isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) dos consumidores e das presas com o desvio padrão associado. É ainda incluído o fator de enriquecimento (TEF – *trophic enrichment factor*) entre as presas e os predadores, o que permite uma correção das razões isotópicas associada ao nível trófico dos dois grupos. Os valores de TEF podem variar consideravelmente entre espécies e entre tecidos amostrados (Hilderbrand, 1996). Neste estudo, e uma vez que não existem publicados valores de referência para o rolieiro, optou-se por utilizar uma média de valores para várias espécies de aves (sempre no sangue) (Caut *et al.*, 2009; Catry *et al.*, 2016b). Assim, foi considerado um valor de TEF de 0.59 ± 1.09 ‰ para o $\delta^{13}\text{C}$ e de 2.37 ± 0.62 ‰ para o $\delta^{15}\text{N}$. Um total de sete fontes de alimentação foram adicionadas ao modelo (**Tabela 2.4.1**). Algumas das presas potenciais foram agrupadas de acordo com semelhanças nas assinaturas isotópicas de forma a diminuir o número de fontes nos modelos e assim aumentar o seu poder discriminatório (Phillips, 2003).

Tabela 2.4.1. Presas potenciais de rolieiro incluídas no modelo SIAR.

| | TAXON | Presa | Nº amostras |
|---|------------|-------------------------------------|-------------|
|  | Orthoptera | <i>Decticus</i> sp. | 3 |
| | | Acrididae não identificado | 3 |
|  | Coleoptera | <i>Protaetia morio</i> | 1 |
| | | <i>Silpha</i> sp. | 1 |
|  | Coleoptera | <i>Sepidium</i> sp. | 3 |
| | | <i>Carabus rugosus</i> | 2 |
|  | Coleoptera | <i>Pterostichus globosus ebenus</i> | 2 |
| | | <i>Amphimallon nigrum</i> | 2 |
|  | Orthoptera | <i>Gryllotalpa</i> sp. | 3 |
|  | Coleoptera | <i>Bubas bison</i> | 2 |
|  | Coleoptera | <i>Chrysolina bankii</i> | 3 |

Uma vez que apenas algumas presas potenciais foram amostradas, e tendo em conta o provável elevado número de presas consumidas pelo rolieiro, estes modelos foram usados com o objetivo de corroborar os dados obtidos da análise de regurgitações e de vídeos, nomeadamente no que respeita a grandes padrões e a potenciais diferenças entre grupos etários evidenciadas através de métodos distintos.

De modo a estimar e comparar as áreas dos nichos isotópicos entre fêmeas e machos e entre adultos e crias recorreu-se ao *package* SIBER- *Stable Isotope Bayesian Ellipses in R* (Jackson *et al.*, 2011). Foram calculadas três medidas de nicho isotópico: (1) área da elipse standard (SEA), uma elipse com 95% dos dados, (2) área da elipse *standard* corrigida (SEA_C), uma elipse que contém 40% dos dados e permite comparar amostras pequenas ou com diferentes dimensões e (3) uma estimativa Baesiana da área da elipse standard (SEA_B), de maneira a ser possível a comparação estatística das áreas das elipses referentes aos nichos dos diferentes grupos. Esta elipse é calculada através de um método iterativo (*Markov chain Monte Carlo* (MCMC) com 10⁴ iterações para cada grupo), que reflete a incerteza derivada do processo de amostragem, sendo também adequada a amostras pequenas (Jackson *et al.*, 2011). Para determinar diferenças entre áreas dos diferentes grupos calculou-se a proporção das elipses geradas em que a área de um grupo é menor que a área de outro grupo. Este cálculo aplica-se na comparação entre os grupos etários (adultos/crias) e entre diferentes sexos (adultos). Proporções inferiores a 20% ou superiores a 80% foram consideradas como indicando diferenças nas áreas das elipses dos diferentes grupos.

Adicionalmente foi calculado o nível de sobreposição nos nichos isotópicos (SEA_C) entre machos e fêmeas e entre adultos e crias. Para cada grupo (i) num par de comparações (i,j), foi calculado um valor de sobreposição (S[i]) como a razão entre a área de sobreposição entre as SEAC (A[i,j]) dos dois grupos e a sua própria SEAC (A[i]), expressa como uma proporção ($S[i] = A[i,j]/A[i]$; (Catry *et al.*, 2016)).

Todas as análises foram levadas a cabo com o *Software* R 3.3.2 (R Core Team 2016).

2.5 Registo vídeo de padrões diários e taxa de alimentação das crias

De modo a determinar os padrões diários e as taxas de alimentação das crias recorreu-se a filmagens de longa duração (2 dias por ninho) das entregas de alimento feitas pelos progenitores ao ninho. As filmagens foram levadas a cabo no período de 10 de junho 2017 a 1 de julho 2017 com o auxílio de 4 câmeras *timelapse* Plotwatcher Pro. Estas câmeras tiram fotografias com intervalo de 1 segundo, sendo as imagens agrupadas em formato vídeo que pode ser visualizado com o *software* *GameFinder*. As câmeras foram colocadas a uma distância superior a 2 metros de cada ninho e programadas para iniciar a gravação de vídeo com o nascer do sol ($\approx 5h30$) e cessar a gravação com o pôr do sol ($\approx 21h30$).

O número de crias em cada ninho foi contabilizado no momento de colocação da câmera. A idade das crias foi estimada com base num programa de monitorização paralelo a este estudo, em que se efetuaram visitas semanais aos ninhos.

Na análise dos vídeos, foram registadas todas as visitas aos ninhos. As visitas foram classificadas como “entrega”, quando foi possível observar a presa trazida pelo progenitor, “visita sem entrega”, quando a visita não correspondia a uma entrega de alimento, e “entrega potencial”, sempre que não foi possível confirmar a presença ou ausência de presa. As visitas classificadas como “entrega potencial” ocorreram em duas situações principais: (1) em ninhos em que as câmeras foram colocadas mais longe (por motivos logísticos como falta de suporte próximo) e (2) sempre que o primeiro *frame* do vídeo onde aparece a ave adulta, esta já tenha a cabeça dentro do ninho, não sendo possível confirmar a presença de presa.

Para fins analíticos as entregas só foram contabilizadas a partir das 6h00 até às 20h59, uma vez que a pouca luz fora deste período dificulta a análise correta dos eventos. As visitas aos ninhos foram corrigidas pelo número de crias de cada ninhada.

De forma a verificar se o padrão diário de visitas ao ninho foi um bom *proxy* do padrão de alimentação de crias, avaliou-se qual a proporção de visitas que não correspondem a entregas de alimento bem como se o padrão destas visitas difere das visitas em que se confirmou entrega de alimento.

Foi feita uma regressão linear para avaliar se a idade das crias tem influência na taxa de visitação ao ninho.

Para avaliar se existe influência do número de crias da ninhada na taxa de visitação, foram comparados com um teste de Mann-Whitney U (1) ninhos com menos de 4 crias inclusive ($n=10$ ninhos) e (2) ninhos com 5 e 6 crias ($n=10$ ninhos).

2.6 Sexagem molecular

O rolieiro é uma espécie que apresenta dimorfismo sexual pouco pronunciado (Fry, Fry e Harris, 2010), sendo extremamente difícil ou mesmo impossível a sexagem dos indivíduos por observação de caracteres morfológicos. Por este motivo efetuou-se a sexagem das aves adultas estudadas com base em técnicas moleculares. Assim, para todos os adultos capturados, e em simultâneo com a amostragem de sangue para SIA, cerca de 50 µl de sangue foram conservados em *eppendorfs* com o tampão *Queen's Lysis Buffer* (Longmire, Maltbie e Baker 1997).

Nas aves, o sexo é determinado pelo sistema ZW. As fêmeas são heterogaméticas, apresentando os cromossomas Z e W. Os machos são homogaméticos, apresentando um par de cromossomas Z.

Um método eficiente de sexagem molecular de aves baseia-se na amplificação, por *polymerase chain reaction* (PCR), de um par de genes homólogos existente nos cromossomas sexuais, o CHD1Z (no cromossoma Z) e o CHD1W (no cromossoma W) (Fridolfsson e Ellegren, 1999). Apesar de homólogos, têm uma dimensão diferente devido ao CHD1W ter um intrão com menos 250 pares de bases, o que resulta na amplificação de um fragmento mais pequeno. Na eletroforese dos produtos amplificados, é então possível observar duas bandas de diferente dimensão nas fêmeas, e uma banda única nos machos, que representa a co-amplificação do fragmento dos dois CHD1Z (Fridolfsson e Ellegren, 1999) (**Anexo2.6.1**).

Ao contrário dos mamíferos, os glóbulos vermelhos das aves são nucleados. Dada a sua concentração no sangue, são uma boa fonte de material genético. A extração de ADN dos glóbulos vermelhos foi realizada com um *kit* de extração de tecidos (E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit, Omega Bio-tek Inc., USA) de acordo com o protocolo específico para amostras de sangue.

Na amplificação dos genes CHD1W e CHD1Z utilizaram-se os *primers* 2550F (5'-GTTACTGATTCGTCTACGAGA-3') e 2718R (5'-TTGAAATGATCAGTGCTTG-3') (Fridolfsson e Ellegren, 1999). A reação de PCR, com um volume total de 15 µL, incluiu as seguintes concentrações finais: 1U de *Taq Supreme* (NZYTech), 0.2 mM de dNTPs, 0.3 mM de cada *primer*, 2 mM de MgCl₂, 0.053% de BSA (Bovine Serum Albumin) e ≈ 50ng de DNA.

O perfil do termociclador incluiu um período de desnaturação inicial a 95°C durante 4 minutos, seguido de 35 ciclos (desnaturação: 95°C x 30 segundos + *Annealing*: 52°C x 30 segundos + *Extensão*: 72°C x 40 segundos) e um passo de extensão final de 7min a 72°C de maneira a promover a síntese completa dos produtos do PCR. Os produtos de PCR foram posteriormente corridos num gel de agarose a 2% e as bandas visualizadas por incidência de luz UV.

Uma vez que o sistema proposto por Fridolfsson e Ellegren (1999) não foi otimizado especificamente para esta espécie, re-amplificaram-se 25% dos indivíduos, o que confirmou sempre o resultado inicial.

3. Resultados

3.1 Caracterização da dieta dos adultos com base na análise de regurgitações

Foi identificado um total de 1422 presas, incluindo 704 no ano de 2013 e 718 no ano de 2016 (**Tabela 3.1.1**). A curva de acumulação do ano de 2013 revelou que as 50 regurgitações foram suficientes de forma a estimar o número de presas diferentes na dieta do rolieiro uma vez que a curva de acumulação estabiliza a partir das 40 amostras. A curva de 2016 denotou uma pequena variação a nível da riqueza de grupos em comparação com o ano de 2013. Registaram-se 7 géneros novos e menos 3 géneros do que no ano de 2013. No entanto estas ocorrências apresentaram frequências numéricas relativamente baixas podendo ser consideradas como ocorrências raras. A curva de 2016 não estabilizou com 34 amostras (**Figura 3.1.1**). Em média ocorreram cerca de 14.4 ± 9.9 indivíduos em cada regurgitação.

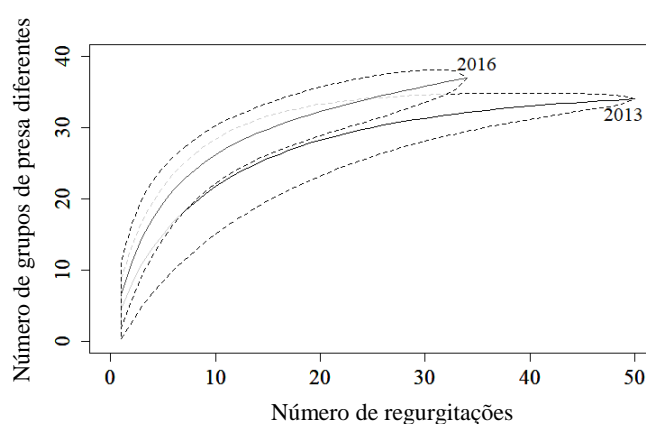


Figura 3.1.1. Curva de acumulação das diferentes presas encontradas em regurgitações de rolieiro nos anos de 2013 e 2016. A linha contínua define a curva de acumulação média e a linha tracejada descreve os intervalos de confiança de 95%.

Relativamente à riqueza específica, cada regurgitação apresentou uma média de 4.74 ± 2.30 espécies/grupos taxonómicos diferentes.

No total, foram encontradas nas regurgitações presas pertencentes a 12 diferentes ordens e contabilizaram-se um mínimo de 41 espécies/grupos taxonómicos diferentes incluindo moluscos gastrópodes, artrópodes e vertebrados.

O grupo mais representativo na dieta do rolieiro é o dos insetos coleópteros, ocorrendo em 83 regurgitações (FO \approx 99%) e estando representado por um total de 1169 indivíduos (FN \approx 83%) distribuídos em 11 famílias diferentes. Em número inferior e por ordem decrescente, insetos himenópteros, dermápteros e ortópteros (**Tabela 3.1.1**.)

O escaravelho *Amphimallon nigrum*, da família Scarabaeidae, foi a espécie que ocorreu com maior frequência, tendo sido encontrado em 34 regurgitações (FO \approx 41%). A segunda espécie mais frequente foi o escaravelho *Chrysolina bankii* da família Chrysomelidae (FO \approx 39%), seguindo-se o escaravelho *Silpha* sp. da família Silphidae (FO \approx 37%).

A ordem que apresentou presas com maior biomassa individual foi a dos Orthoptera (gafanhotos), no entanto, apresentou baixa frequência numérica (FN \approx 3 %) embora ocorrendo em 25% das regurgitações. Outras espécies que também apresentaram valores biomassa elevados, são escaravelhos da família Scarabaeidae, incluindo o escaravelho *Onitis belial*, que apresentou valor mais elevado de biomassa registado neste estudo (0.532 g), *Copris hispanicus* (0.254 g), *Protaetia* sp. (0.228 g) e *Bubas* sp. (0.213 g) (**Tabela 3.1.1**).

Em relação à variação temporal, genericamente, a abundância das presas mais frequentes variou ao longo do período de amostragem. Os grupos *Bubas* sp. e *Chrysolina bankii* apresentaram em ambos os anos um decréscimo significativo na sua abundância nas regurgitações ao longo do tempo. Pelo contrário, o número de indivíduos da espécie *Amphimallon nigrum* e do grupo dos escaravelhos Carabidae registou um aumento significativo nas regurgitações no decorrer do período de amostragem. O género *Silpha* sp. registou no ano de 2013 uma diminuição significativa não se tendo observado diferenças no ano de 2016, relativamente à espécie *Onitis belial*, número de indivíduos diminuiu ao longo do tempo em ambos os anos, no entanto esse decréscimo foi significativo no ano de 2016. Por outro lado, verificou-se um aumento de Orthoptera gafanhotos nas regurgitações do ano de 2013, também não se tendo detetado diferenças no ano de 2016 (**Tabela 3.1.2**; **Figura 3.1.2**)

Tabela 3.1.2. Resultados dos modelos lineares generalizados descrevendo a relação entre a variação temporal e a abundância dos grupos de presas mais frequentes nas regurgitações.

| Grupo específico | Variável | Estimativa | Erro padrão | z | P |
|---------------------------|----------|------------|-------------|-------|--------------|
| <i>Bubas</i> sp. | dia | -0.06 | 0.01 | -4.15 | 0.000 |
| | ano | 0.33 | 0.41 | 0.81 | 0.420 |
| <i>Onitis belial</i> | dia | -0.02 | 0.01 | -1.18 | 0.244 |
| | ano | -1.49 | 0.72 | -2.07 | 0.042 |
| <i>Amphimallon nigrum</i> | dia | 0.04 | 0.01 | 3.38 | 0.001 |
| | ano | 0.58 | 0.35 | 1.63 | 0.107 |
| <i>Silpha</i> sp. | dia | -0.05 | 0.01 | -3.90 | 0.000 |
| | ano | -10.58 | 5.00 | -2.11 | 0.038 |
| <i>Chrysolina bankii</i> | dia | -0.04 | 0.01 | -3.38 | 0.001 |
| | ano | -0.81 | 0.49 | -1.64 | 0.105 |
| Carabidae | dia | 0.05 | 0.02 | 3.29 | 0.002 |
| | ano | 1.74 | 0.50 | 3.48 | 0.001 |
| Orthoptera | dia | 0.08 | 0.02 | 3.49 | 0.001 |
| | ano | 15.56 | 4.97 | 3.13 | 0.002 |

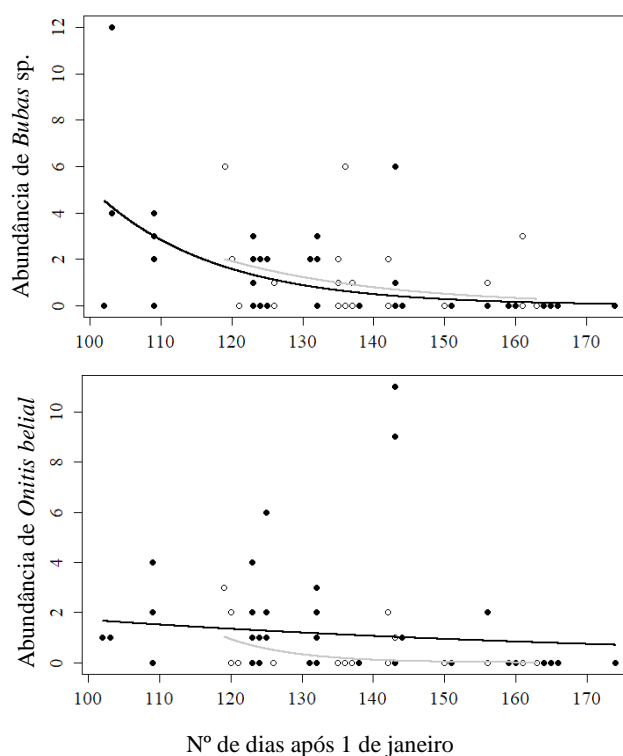


Figura 3.1.2 Variação temporal no número de indivíduos (por regurgitação) das presas mais frequentes na dieta de roedores adultos. As linhas representam a variação estimada da abundância das espécies no decorrer do período de amostragem de 2013 (preto) e 2016 (cinzento).

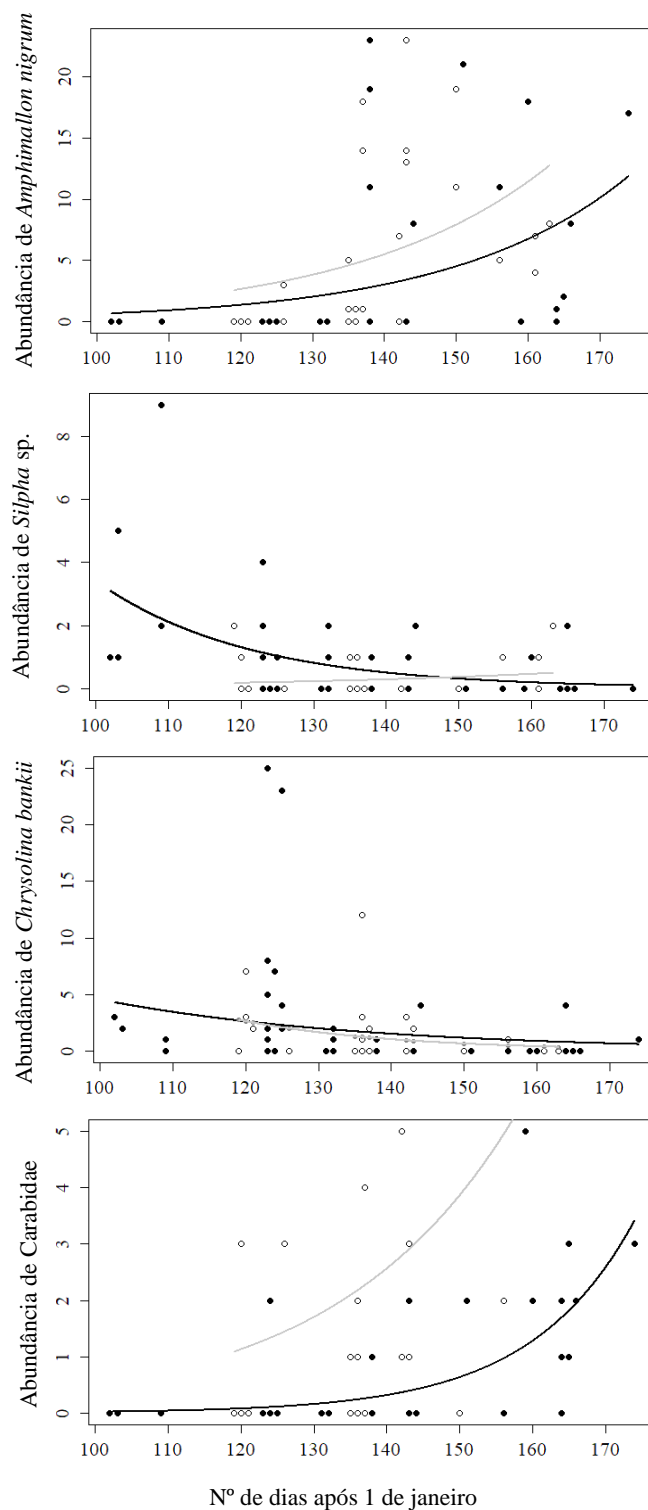


Figura 3.1.2CONTINUAÇÃO Variação temporal no número de indivíduos (por regurgitação) das presas mais frequentes na dieta de rolieiros adultos. As linhas representam a variação estimada da abundância das espécies no decorrer do período de amostragem de 2013 (preto) e 2016 (cinzento).

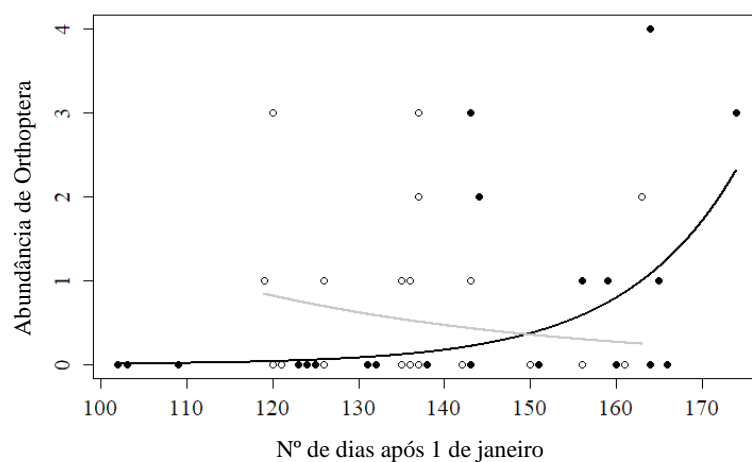


Figura 3.1.2CONTINUAÇÃO Variação temporal no número de indivíduos (por regurgitação) das presas mais frequentes na dieta de rolieiros adultos. As linhas representam a variação estimada da abundância das espécies no decorrer do período de amostragem de 2013 (preto) e 2016 (cinzento).

Tabela 3.1.1. Frequência de ocorrência (FO%) e frequência numérica (FN%) de presas encontradas em 84 regurgitações de rolieiro nos anos de 2013 e 2016. Sempre que possível, foi incluída informação sobre a biomassa individual (média e desvio padrão) das presas (expressa em gramas (g)). Para as espécies/grupos taxonômicos sem dados de biomassa da área de estudo é apresentada a fonte bibliográfica de onde foi retirado o valor da estimativa. NI = não identificado.

| TAXA | Espécie | Nº Indivíduos (n=1417) | Nº regurgitações (n=84) | FO(%) | FN(%) | Biomassa individual (g) | Fonte |
|------------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------|-------------|----------------------------|---------------------------------|
| MOLLUSCA | | | | | | | |
| Gastropoda | NI | 6 | 3 | 3.57 | 0.42 | - | |
| ARTHROPODA | | | | | | | |
| Diplopoda | | | | | | | |
| Julida | | | | | | | |
| Julidae | NI | 5 | 5 | 5.95 | 0.35 | - | |
| Arachnida | | | | | | | |
| Solifugae | | | | | | | |
| Daesiidae | <i>Gluvia dorsalis</i> | 7 | 5 | 5.95 | 0.49 | 0.0372 ± 0.0003 (n=5) | Garrido, 1997 |
| Scorpiones | | | | | | | |
| Buthidae | <i>Buthus occitanus</i> | 1 | 1 | 1.19 | 0.07 | - | |
| Insecta | | | | | | | |
| Dermaptera | NI | 71 | 8 | 9.52 | 5.01 | 0.030 | Gameiro, 2015 |
| Orthoptera | | | | | | | |
| Acrididae | NI | 14 | 9 | 10.71 | 0.99 | 0.339 ± 0.226 (n=22) | presente estudo |
| Tettigoniidae | NI | 10 | 7 | 8.33 | 0.71 | 0.435 ± 0.270 (n=10) | presente estudo |
| Gafanhotos não identificados | | 9 | 6 | 7.14 | 0.64 | 0.369 ± 0.271 | presente estudo |
| Gryllotalpidae | <i>Gryllotalpa</i> sp. | 3 | 3 | 3.57 | 0.21 | 0.350 | Gameiro, 2015 |
| Total Orthoptera | | 36 | 21 | 25.00 | 2.54 | | |
| Hemiptera | | | | | | | |
| (Sub-ordem Heteroptera) | NI | 18 | 17 | 20.24 | 1.27 | - | |
| Hymenoptera | | | | | | | |
| Formicidae | NI | 31 | 10 | 11.90 | 2.19 | 0.010 | Gameiro, 2015 |
| Hymenoptera n/formicidae | NI | 60 | 11 | 13.10 | 4.23 | - | |
| Total Hymenoptera | | 91 | 18 | 21.43 | 6.42 | | |
| Lepidoptera | NI | 1 | 1 | 1.19 | 0.07 | - | |
| Coleoptera | | | | | | | |
| Cantharidae | NI | 1 | 1 | 1.19 | 0.07 | - | |
| Scarabaeidae | | | | | | | |
| Sub-Fam. Scarabaeinae | <i>Copris</i> | | | | | | |
| | <i>hispanicus</i> | 1 | 1 | 1.19 | 0.07 | 0.254 | presente estudo |
| | <i>Onitis ion</i> | 24 | 12 | 14.29 | 1.69 | 0.083 | presente estudo |
| | <i>Onitis belial</i> | 66 | 25 | 29.76 | 4.66 | 0.532 | presente estudo |
| | <i>Cheironitis</i> sp. | 4 | 4 | 4.76 | 0.28 | 0.155 | presente estudo |
| | <i>Bubas</i> sp. | 88 | 32 | 38.10 | 6.21 | 0.213 | presente estudo |
| | <i>Onthophagus</i> sp. | 15 | 13 | 15.48 | 1.06 | 0.011 ± 0.009 | Galante, Mena e Lumbreras, 1995 |

Tabela 3.1.1 CONTINUAÇÃO. Frequência de ocorrência (FO%) e frequência numérica (FN%) de presas encontradas em 84 regurgitações de rolieiro nos anos de 2013 e 2016. Sempre que possível, foi incluída informação sobre a biomassa individual (média e desvio padrão) das presas (expressa em gramas (g)). Para as espécies/grupos taxonômicos sem dados de biomassa da área de estudo é apresentada a fonte bibliográfica de onde foi retirado o valor da estimativa. NI = não identificado

| TAXA | Espécie | Nº Indivíduos (n=1417) | Nº regurgitações (n=84) | FO(%) | FN(%) | Biomassa individual (g) | Fonte |
|-------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------|--------------|----------------------------|---------------------------------|
| Sub-Fam. Aphodinae | <i>Aphodius</i> sp. | 24 | 11 | 13.10 | 1.69 | 0.006 | presente estudo |
| Sub-Fam. Melolonthinae | <i>Amphimallon nigrum</i> | 365 | 34 | 40.48 | 25.67 | 0.0943 ± 0.0154 (n=12) | presente estudo |
| | <i>Rhizotrogus</i> sp. | 1 | 1 | 1.19 | 0.07 | 0.040 | Gameiro, 2015 |
| Sub-Fam. Cetoniinae | <i>Protaetia</i> sp. | 11 | 8 | 9.52 | 0.78 | 0.228 | presente estudo |
| | <i>Tropinota</i> sp. | 24 | 17 | 20.24 | 1.69 | - | |
| | <i>Oxythyrea</i> sp. | 5 | 5 | 5.95 | 0.35 | - | |
| | NI | 16 | 11 | 13.10 | 1.13 | - | |
| Chrysomelidae | <i>Chrysolina bankii</i> | 140 | 33 | 39.29 | 9.88 | 0.060 ± 0.006 (n=6) | presente estudo |
| Geotrupidae | <i>Geotrupes</i> sp. | 1 | 1 | 1.19 | 0.07 | 0.195 ± 0.024 | Galante, Mena e Lumbreras, 1995 |
| Carabidae | <i>Chlaenius velutinus</i> | 1 | 1 | 1.19 | 0.07 | 0.200 | Gameiro, 2015 |
| | <i>Carabus</i> sp. | 11 | 10 | 11.90 | 0.78 | - | |
| | NI | 122 | 30 | 35.71 | 8.61 | 0.065 ± 0.0235 (n=5) | presente estudo |
| Curculionidae | NI | 21 | 16 | 19.05 | 1.48 | 0.057 ± 0.013 (n=3) | presente estudo |
| Tenebrionidae | <i>Alphasida</i> sp. | 23 | 14 | 16.67 | 1.62 | - | |
| | <i>Sepidium</i> sp. | 34 | 21 | 25.00 | 2.40 | 0.115 ± 0.004 (n=2) | presente estudo |
| | NI | 15 | 9 | 10.71 | 1.06 | 0.057 ± 0.005 (n=4) | presente estudo |
| Buprestidae | <i>Capnodis tenebricosa</i> | 7 | 5 | 5.95 | 0.49 | - | |
| Silphidae | <i>Silpha</i> sp. | 57 | 31 | 36.90 | 4.02 | 0.075 | presente estudo |
| Staphilionidae | <i>Ocypus olens</i> | 86 | 21 | 25.00 | 6.07 | 0.0471 ± 0.0003 (n=5) | Garrido, 1997 |
| | NI | 3 | 3 | 3.57 | 0.21 | - | |
| Histeridae | NI | 8 | 6 | 7.14 | 0.56 | - | |
| Total Coleoptera | | 1169 | 83 | 98.81 | 82.50 | | |
| Diptera | | | | | | | |
| Asilidae | NI | 3 | 1 | 1.19 | 0.21 | - | |
| CORDATA | | | | | | | |
| Squamata | NI | 7 | 7 | 8.33 | 0.49 | - | |
| OUTROS | | | | | | | |
| Casca de ovo de ave | | 2 | 2 | 2.38 | 0.14 | - | |

3.2 Caracterização da dieta de crias através de registo vídeo

Foi analisado um total de 74 horas e 7 minutos de filmagens. No total, foram contabilizadas 490 entregas de alimento, 117 visitas em que não foi possível confirmar se houve entrega de alimento e 6 visitas em que as aves adultas transportaram itens não-alimentares, nomeadamente pedras e objetos de plástico. Não foi possível identificar a presa em 137 dos 490 eventos de entrega.

As presas mais comuns na dieta das crias pertencem à ordem Orthoptera, correspondendo a cerca de 75% dos indivíduos identificados (n=264) (**Tabela 3.2.1**). Dentro da ordem Orthoptera a família com maior número de indivíduos é a dos gafanhotos acridídeos, contando com 131 indivíduos (FN≈37%), seguida dos Tettigoniidae com uma frequência numérica de ≈15% (n=73). É de notar que estas frequências estão subestimadas, uma vez que não foi possível identificar até à família 17% dos gafanhotos, que, no entanto, pertencem maioritariamente a estas duas famílias.

Tabela 3.2.1. Frequência numérica de presas entregues às crias identificadas em vídeo.

| TAXA | | Nº indivíduos (n=349) | FN (%) |
|-------------------------|------------------------|-----------------------|--------------|
| MOLUSCA | | | |
| Gastropoda | NI | 4 | 1.13 |
| ARTHROPODA | | | |
| Scolopendromorpha | <i>Scolopendra</i> sp. | 4 | 1.13 |
| Arachnidae | NI | 1 | 0.28 |
| Insecta | | | |
| Orthoptera | Acrididae | 131 | 37.11 |
| | Tettigoniidae | 73 | 20.68 |
| | NI | 60 | 17.00 |
| <i>Total Orthoptera</i> | | 264 | 74.79 |
| Coleoptera | NI | 23 | 6.52 |
| Lepidoptera | NI | 2 | 0.57 |
| Mantodea | NI | 1 | 0.28 |
| NI (não-orthoptera) | | 42 | 11.90 |
| CORDATA | | | |
| Squamata | <i>Chalcides</i> sp. | 2 | 0.57 |
| OUTROS | | | |
| Ovos de ave | NI | 6 | 1.70 |

3.3 Caracterização da dieta de adultos e crias através da análise de isótopos estáveis (SIA)

3.3.1. Segregação sexual e etária

Não foram encontradas diferenças significativas entre as assinaturas isotópicas de machos e fêmeas de rolieiros ($\delta^{13}\text{C}$: $t = 0.301$, $P = 0.765$; $\delta^{15}\text{N}$: $U = 139.5$, $P = 0.739$) (**Tabela 3.3.1**), nem diferenças consistentes entre indivíduos de um mesmo casal ($\delta^{13}\text{C}$: $t = -0.886$, $P = 0.393$; $\delta^{15}\text{N}$: $t = -0.616$, $P = 0.549$; $n=13$).

Tabela 3.3.1. Valores médios (\pm desvios padrão) das assinaturas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em machos, fêmeas e crias de rolieiro. O tamanho da amostra é apresentado entre parêntesis.

| Grupos | $\delta^{13}\text{C}$ | $\delta^{15}\text{N}$ |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Adultos (n=30) | -24.89 \pm 0.41 | 9.26 \pm 0.79 |
| Fêmeas (n=20) | -24.86 \pm 0.39 | 9.14 \pm 0.86 |
| Machos (n=15) | -24.84 \pm 0.33 | 9.32 \pm 0.59 |
| Crias (n=15) | -25.53 \pm 0.32 | 5.94 \pm 0.66 |

3.3.2. Variação temporal

Não se verificou uma variação temporal significativa nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ de rolieiros adultos no decorrer do período de amostragem (regressão linear: $R^2=0.048$, $F_{1,33}=1.680$, $P=0.204$). No entanto, verificou-se um enriquecimento do $\delta^{13}\text{C}$ no decorrer do período de amostragem ($R^2=0.023$, $F_{1,33}=9.96$, $P=0.003$) (**Figura 3.3.1**). Apesar da baixa sobreposição temporal na amostragem de adultos e crias, de um modo geral não parece haver uma tendência para a assinaturas isotópica dos adultos se aproximar da assinatura das crias ao longo do período de amostragem (**Figura 3.3.1**).

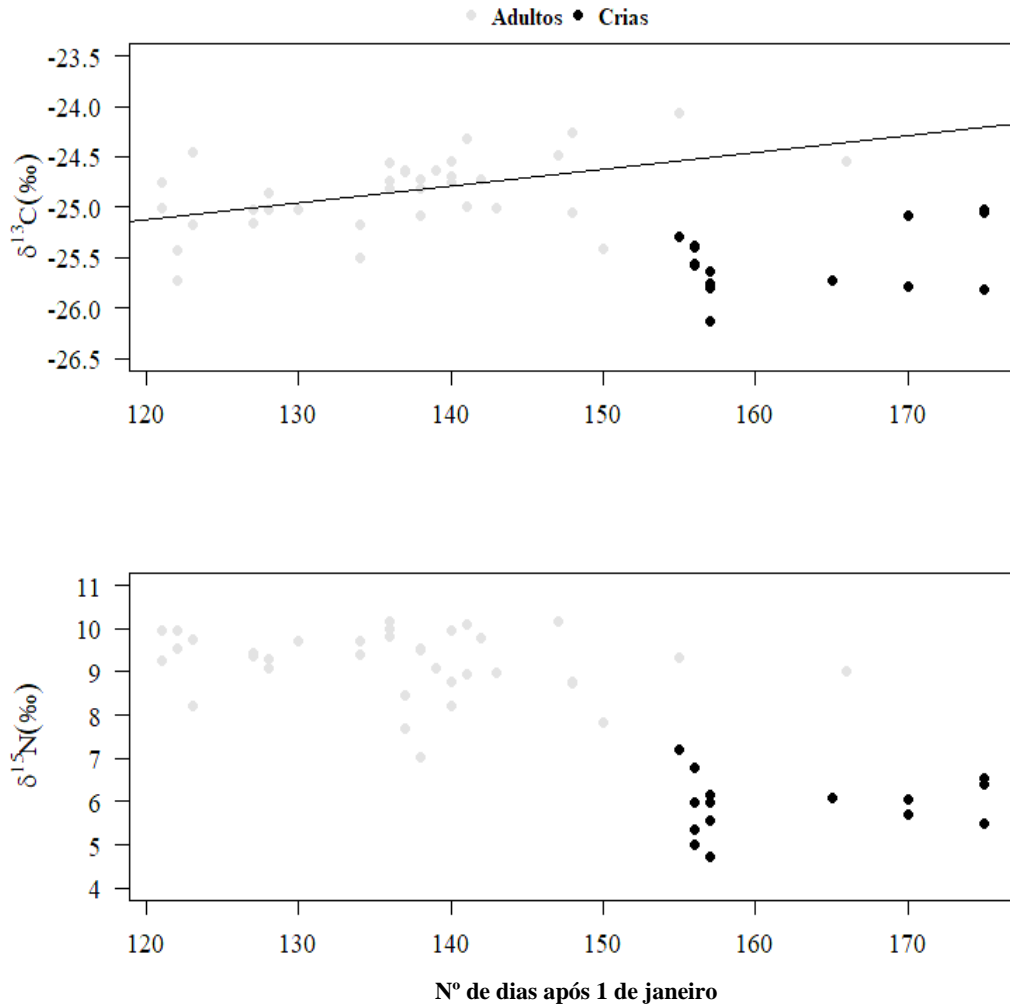


Figura 3.3.1. Variação temporal nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ em sangue de rolieiro (35 adultos e 15 crias). A linha a preto representa a relação linear positiva entre o $\delta^{13}\text{C}$ do sangue dos adultos e a data. A data é representada pelo número de dias desde o dia 1 de janeiro de 2016 e foi corrigida para 15 dias antes do dia de amostragem de forma a representar a data de integração do sinal isotópico no sangue (ver métodos).

3.3.3 Composição da dieta

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ dos escaravelhos foram superiores aos dos gafanhotos e em geral, as assinaturas isotópicas dos escaravelhos aproximaram-se e sobrepujaram-se às assinaturas dos adultos. Por outro lado, as assinaturas isotópicas dos gafanhotos aproximaram-se das assinaturas das crias (Figura 3.3.2).

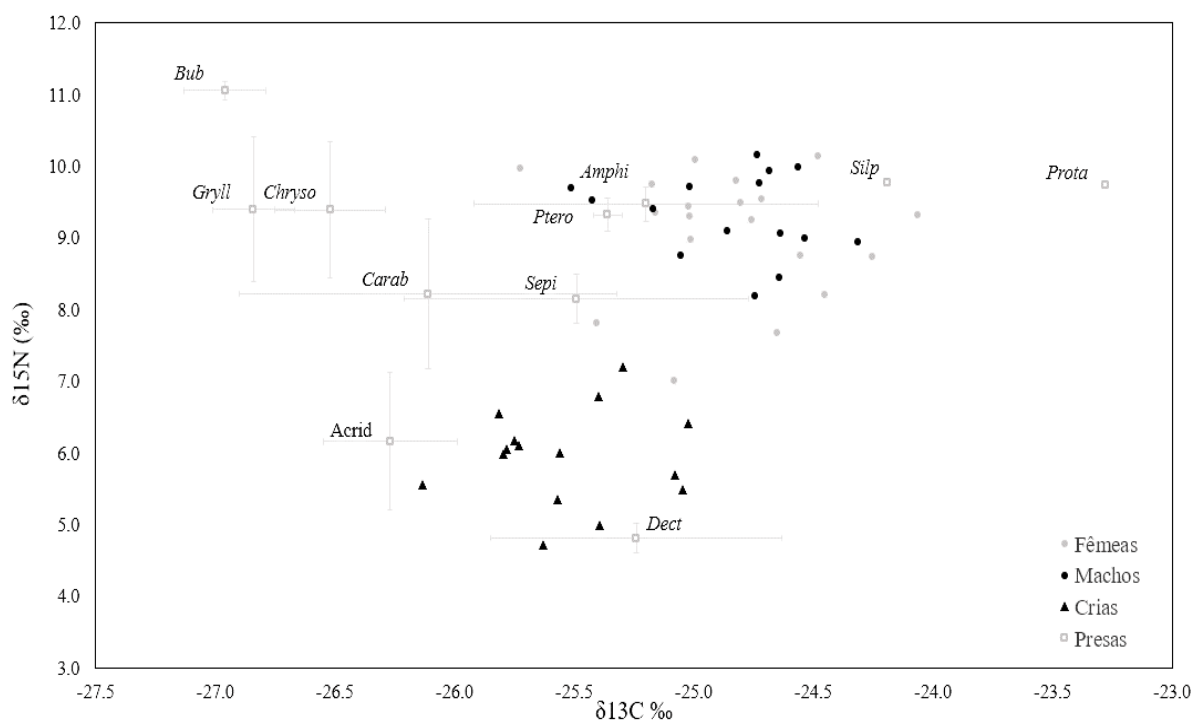


Figura 3.3.2. Valores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ no sangue de rolieiros adultos (machos e fêmeas) e crias, e (média \pm desvio padrão) das suas presas potenciais (Bub: *Bubas bison*; Gryll: *Gryllotalpa* sp.; Chryso: *Chrysolina bankii*; Carab: *Carabus rugosus*; Acrid: Acrididae NI; Dect: *Decticus albifrons*; Sepi: *Sepidium* sp.; Ptero: *Pterostichus globosus ebenus*; Amphi: *Amphimallon nigrum*; Silp: *Silpha* sp.; Prota: *Protaetia morio*).

Os modelos mistos SIAR sugerem que a dieta dos adultos durante o período de postura e incubação é dominada por escaravelhos, com uma contribuição total de $\approx 83.1\%$, enquanto outras presas potenciais, como ralos e gafanhotos tiveram uma contribuição menor de $\approx 5.6\%$ e $\approx 8.0\%$, respetivamente (Figura 3.3.3). Entre os coleópteros, os grupos das espécies *Protaetia morio* e *Silpha* sp. e *Amphimallon nigrum* e *Pterostichus globosus ebenus*, com contribuições médias de 45% (IC₉₅: 30%-50%) e 15% (IC₉₅: 1%-30%), respetivamente, parecem ser os mais importantes.

Nas crias, os gafanhotos são o grupo taxonómico com uma contribuição mais elevada, representando cerca de 70% da biomassa assimilada, enquanto os escaravelhos apresentam uma contribuição de $\approx 28.9\%$ e os ralos de $\approx 4.1\%$ (Figura 3.3.3).

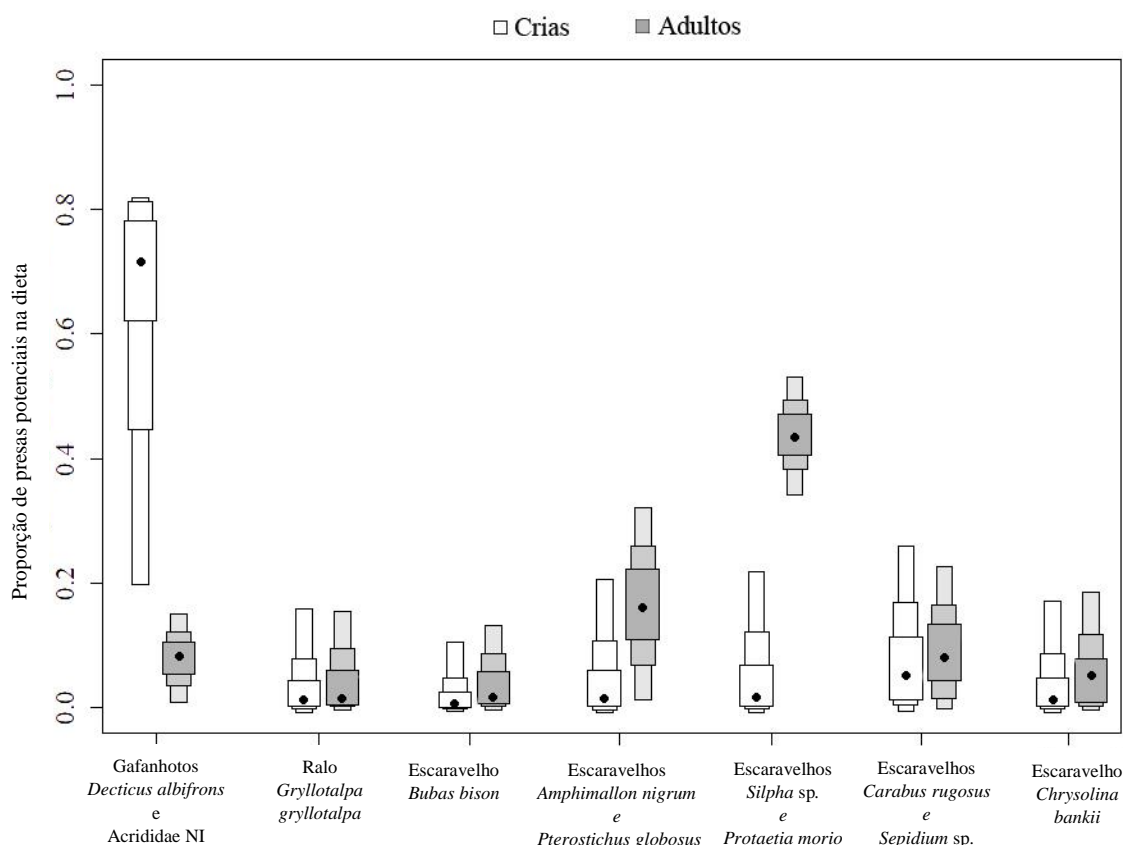


Figura 3.3.3. Contribuição relativa de diferentes presas (ou grupo de presas) na dieta de rolieiros adultos (período de postura e incubação) e crias. As caixas representam os intervalos de credibilidade de 50, 75 e 95%. Os pontos representam a mediana.

3.3.4. Nichos isotópicos

A área do nicho isotópico não difere significativamente entre o grupo dos adultos e das crias $P_{SEABadultos < SEABcrias} = 0.24$ (**Tabela 3.3.2**) e não existe sobreposição de nicho entre os grupos para os períodos estudados (postura e incubação nos adultos) (**Figura 3.3.4**). No entanto, foram detetadas diferenças entre as áreas das elipses dos machos e das fêmeas $P_{SEABfêmeas < SEABmachos} = 0.066$, apresentado estas um nicho isotópico mais amplo. O nicho das fêmeas está sobreposto ao dos machos em cerca de 66% e 99% do nicho dos machos sobrepõe-se com o nicho das fêmeas (**Figura 3.3.5**).

Tabela 3.3.2. Nicho isotópico em rolieiros adultos (machos e fêmeas) e crias estimados através das áreas de diferentes elipses: SEA (área da elipse standard), SEA_C (área da elipse standard corrigida) e SEA_B (área da elipse Bayesiana) e respectivos intervalos de credibilidade.

| | Adultos | Fêmeas | Machos | Crias |
|---------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| SEA | 0.848 | 1.051 | 0.614 | 0.670 |
| SEA_C | 0.874 | 1.110 | 0.661 | 0.722 |
| SEA_B | 0.832 | 1.078 | 0.626 | 0.642 |
| | IC ₉₅ : [0.594 -1.175] | IC ₉₅ : [0.652 -1.633] | IC ₉₅ : [0.347- 1.025] | IC ₉₅ : [0.381-1.11] |

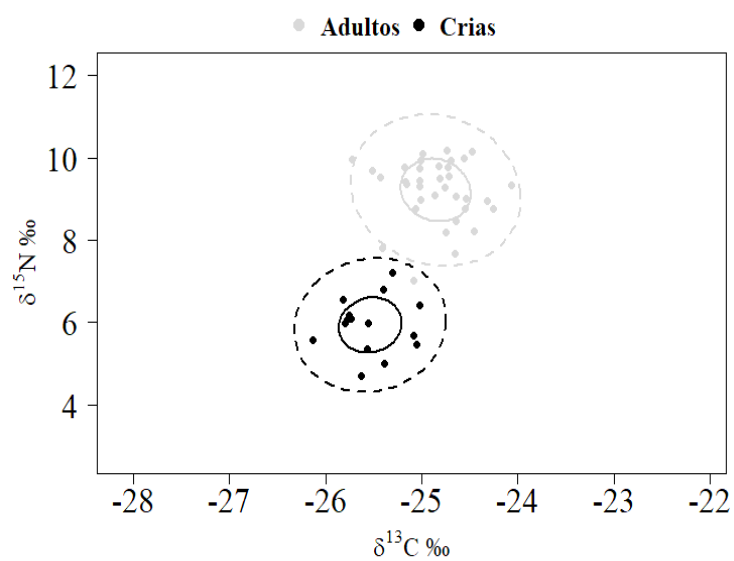


Figura 3.3.4. Áreas dos nichos isotópicos de rolieiros adultos (cinzento) e crias (preto) estimados pela elipse standard (SEA, incluindo 95% dos dados; linha tracejada) e pela elipse standard corrigida (SEAC, incluindo 40% dos dados; linha contínua).

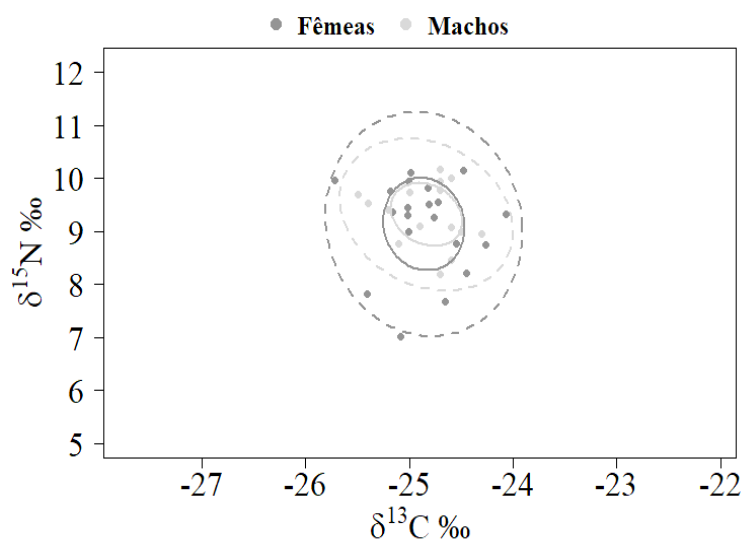


Figura 3.3.5. Áreas dos nichos isotópicos de rolieiros adultos (fêmeas/machos) estimados pela elipse standard (SEA, incluindo 95% dos dados; tracejada) e pela elipse standard corrigida (SEAC, incluindo 40% dos dados; linha contínua).

3.4 Padrões de visitação ao ninho e taxa de alimentação das crias

Foi contabilizado um total de 5544 visitas aos ninhos distribuídas pelos 20 ninhos amostrados em dois dias de amostragem por cada ninho, incluindo 1579 entregas de alimento (S), 442 entradas no ninho sem alimento (N) e 3523 entregas potenciais (P).

Em média, foram registradas 33.8 ± 12.0 visitas por cria por dia (**Figura 3.5.1**), não se verificando diferenças notórias no número de visitas a nível dos dois dias de amostragem por ninho.

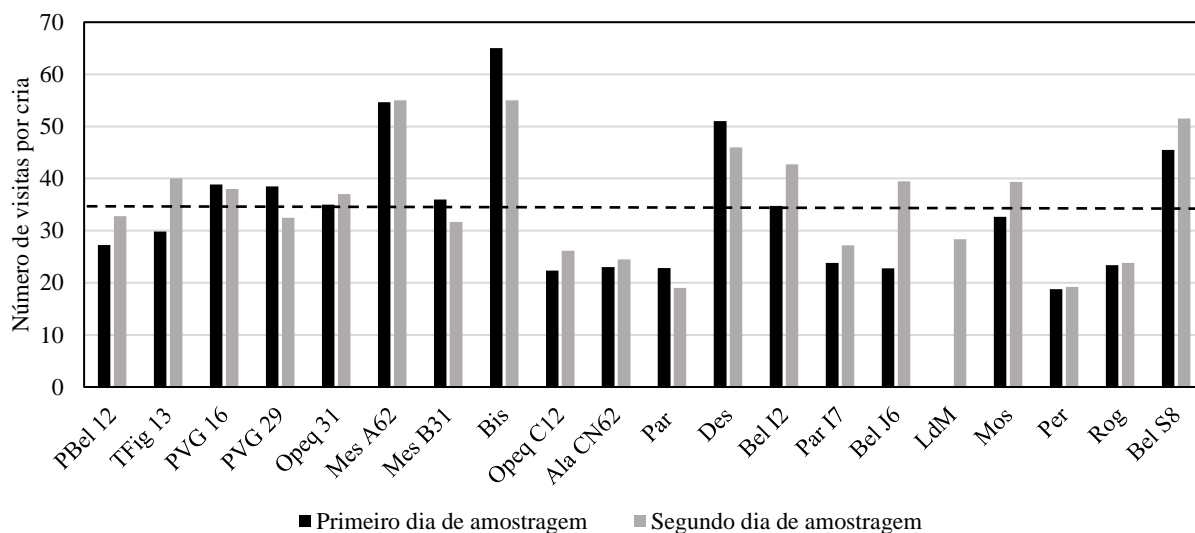


Figura 3.5.1. Número de visitas em cada ninho standardizado para o número de crias de cada ninhada. O valor médio de visitas está representado a tracejado.

Os rolieiros apresentaram padrões diários de visitação distintos entre si, não existindo um padrão típico geral (**Anexo 3.5.1**). As visitas ocorreram durante todo o dia, não existindo preferência por períodos do dia, tendo-se registado 2.3 ± 1.2 visitas por cria por hora (**Figura 3.5.2**). Por outro lado, não se observaram longos períodos sem visitas. Em alguns casais verificaram-se séries de picos de atividade alternados de quedas no número de visitas, outros apresentam uma taxa de visitação constante ao longo das horas do dia.

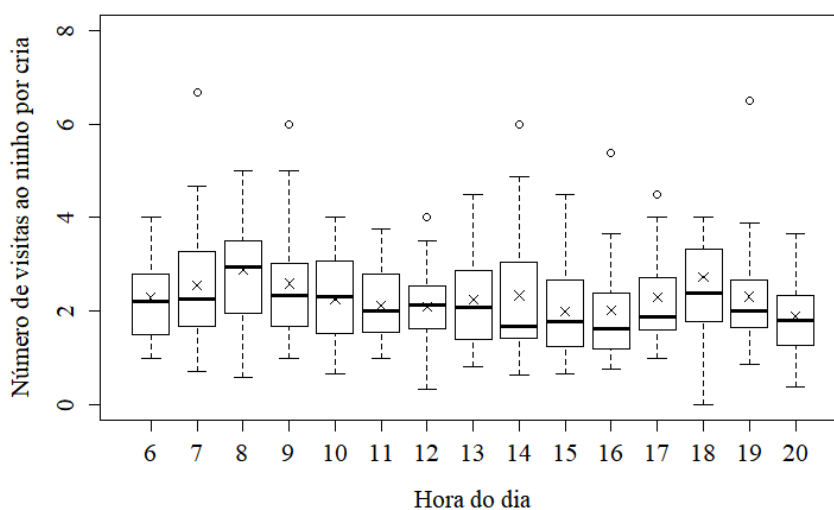


Figura 3.5.2. Padrões diários de visitação ao ninho standardizado por cria. Os limites da caixa de bigodes representam o primeiro e terceiro quartil, a barra a negrito representa a mediana. As cruces representam a média.

Relativamente às taxas de entrega de alimento (entregas efetivas confirmadas) de todos os ninhos amostrados ($n=20$), denotou-se que o período com maior proporção de visitas com entrega de alimento face às visitas sem entrega de alimento é o das 12h às 18h. Neste intervalo, cerca de 80% das visitas ocorreu entrega de alimento.

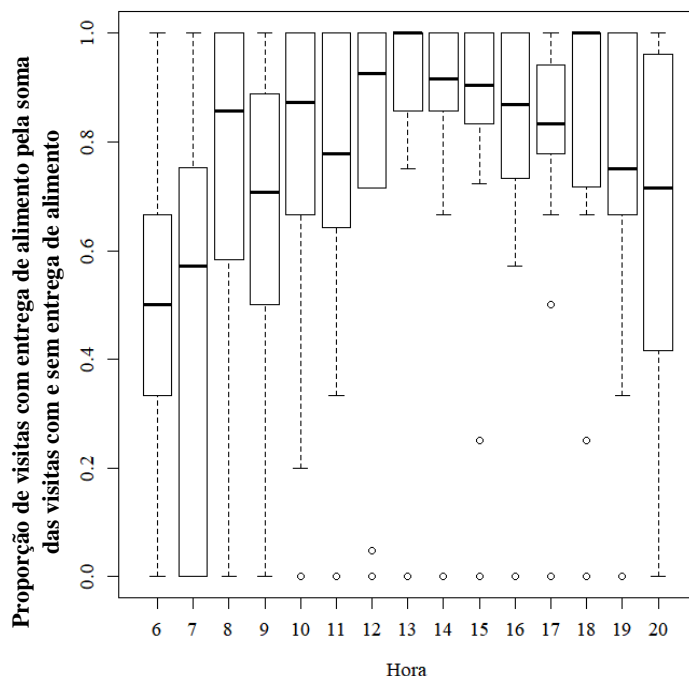


Figura 3.5.3. Proporção de visitas com entrega de alimento (S) em relação a todas as visitas (S +N) para todos os ninhos ($n=20$) ao longo do dia. As entregas potenciais foram excluídas. As caixas de bigodes representam o primeiro e terceiro quartil, a negrito está representada a mediana

O período do início da manhã e o fim da tarde são os períodos que apresentaram uma proporção de visitas com entrega de alimento mais baixa, no entanto na maioria dos ninhos as visitas com entrega de alimento são superiores a 50% (**Figura 3.5.3**).

Não se verificou uma variação significativa no número de visitas face à idade das crias (regressão linear: $R^2 = 0.090$, $F_{1,18} = 1.77$, $P = 0.20$). No entanto, verificou-se uma relação positiva entre o número de visitas e o número de crias na ninhada, havendo um maior esforço por parte dos pais na visitação do ninho quando estes tinham mais crias ($R^2=0.484$, $F_{1,18} = 16.85$, $P = 0.0006$) (**Figura 3.5.4**).



Figura 3.5.4. Número de visitas por ninho por dia relativamente ao número de crias na ninhada.

Embora havendo mais esforço global por parte dos progenitores em ninhadas de maiores dimensões, verificou-se que nos ninhos com mais de 4 crias existem menos visitas por cria (teste Mann Whitney U: $U = 21$, $P = 0.03$) (**Figura 3.5.5**)

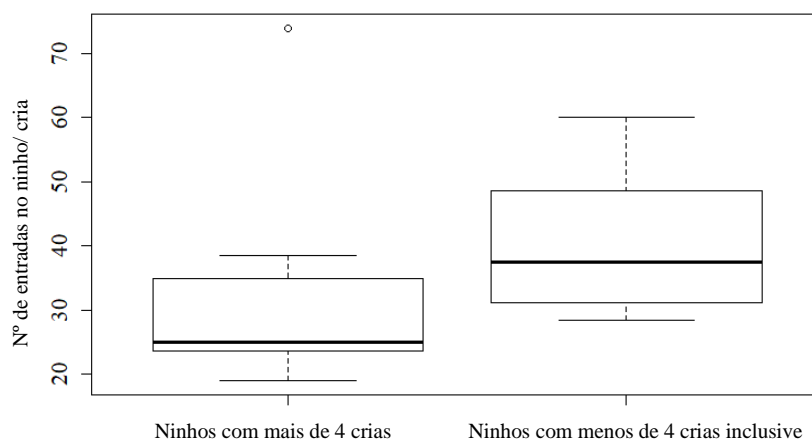


Figura 3.5.5. Número total de visitas ao ninho por cria em relação a dois grupos de tamanho de ninhada. Em ambos os grupos o tamanho amostral é de 10 ninhos.

4. Discussão

Composição da dieta de adultos e crias de rolieiro

Os resultados deste estudo sugerem que os rolieiros adultos se alimentam de uma grande variedade de insetos da ordem dos coleópteros (escaravelhos), enquanto que a dieta das crias é baseada em ortópteros, maioritariamente gafanhotos. Estes resultados são genericamente concordantes com outros estudos sobre a dieta de adultos desta espécie baseados na análise de regurgitações e conteúdos estomacais, e nos quais a dieta foi descrita como sendo composta maioritariamente por coleópteros e ortópteros (Szijj, 1958) e raramente por répteis, anfíbios e pequenos mamíferos (Sosnowski e Chmielewski, 1996). Nas florestas de coníferas do norte da Europa, os rolieiros alimentam-se principalmente de coleópteros cerambycídeos, carabídeos e scarabáídeos (Sosnowski e Chmielewski, 1996). Em relação às crias, um estudo realizado com o auxílio de colares retentores de presas em crias no sudoeste de Espanha revelou um resultado semelhante ao do presente estudo, sendo a dieta das crias caracterizada por um leque mais estrito de presas (em comparação com os adultos), incluindo maioritariamente gafanhotos e aranhas (Avilés e Parejo, 1997). Esta diferença no regime alimentar entre grupos etários poderá dever-se ao facto dos adultos e crias apresentarem diferenças ao nível dos seus requisitos energéticos. Com efeito, as crias necessitam de alimentos muito energéticos uma vez que estão numa fase de rápido desenvolvimento (Weathers, 1992). Por outro lado, nos primeiros dias de vida, as crias poderão ser menos eficientes a digerir e assimilar a energia presente nos alimentos, uma vez que possuem um trato digestivo pouco desenvolvido (Starck e Ricklefs, 1998). O valor energético dos insetos é em grande parte influenciado pelo tecido quitinoso presente no seu exosqueleto uma vez que a quitina é indigestível (Karasov, 1990). Neste sentido, os gafanhotos, que apresentam uma razão tecidos moles/tecido quitinoso elevada em comparação com a maioria dos coléopteros, são claramente uma presa preferencial para as crias. Por outro lado, como os rolieiros adultos transportam cada presa individualmente no bico quando alimentam as crias, tendem a escolher as presas de maior tamanho para as crias, minimizando os seus próprios custos energéticos com a alimentação das crias, uma vez que diminuem a frequência de visitas ao ninho e o tempo gasto na procura de alimentos (Schoener, 1979). Este comportamento de escolha de presas maiores em detrimento de uma maior frequência de visita ao ninho está descrito em várias espécies, nomeadamente no chapim-real *Parus major* Linnaeus, 1758 (Royama, 1966). Por sua vez, caçando para si próprias, as aves adultas não têm o constrangimento de regressar ao ninho, de forma que podem ser menos seletivas e consumir um maior leque de presas. Outra forma das aves minimizarem o custo energético na alimentação das crias (e maximizar a sua sobrevivência) é sincronizar o período de postura com o pico de abundância das suas presas (Salamolard *et al.*, 2000; Noordwijk, McCleery e Perrins, 1995). De uma forma geral, e em particular para a área de estudo, os gafanhotos são muito abundantes nos meses de junho e julho, período em que a temperatura é alta e os níveis de humidade são ótimos para o crescimento e desenvolvimento dos indivíduos das várias espécies de gafanhotos (Catry *et al.*, 2016a), correspondendo também ao período de nascimento das crias do rolieiro. Este facto pode também justificar a segregação na dieta encontrada entre adultos e crias.

Relativamente à variação da dieta dos adultos observada no decorrer do período de amostragem, a abundância irregular de cada grupo de presas na sua dieta deveu-se provavelmente à ecologia e aos ciclos de atividade sazonal das presas. Assim, a variação observada na abundância das diferentes presas na alimentação do rolieiro, deveu-se à disponibilidade das mesmas no habitat e dos diferentes padrões fenológicos inerentes a cada espécie de presa (Jankielsohn A., 2006).

A existência de segregação na dieta entre adultos e crias já foi descrita para muitas espécies de aves de grupos taxonómicos distintos (Alonso *et al.*, 2012; Forero *et al.*, 2002; Beaulieu e Sockman, 2014), nomeadamente no peneireiro-das-torres, uma espécie simpátrica e quase exclusivamente

insetívora (Catry *et al.*, 2016b). É importante ressaltar que embora os resultados da análise de isótopos estáveis de carbono e azoto sugiram a existência de segregação na dieta dos rolieiros, a colheita de amostras dos adultos e crias tem uma sobreposição temporal reduzida. No entanto, é de notar que os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nos adultos mantiveram-se superiores e relativamente constantes ao longo do período de amostragem (ca. 45 dias), não apresentando uma tendência temporal na direcção dos valores das crias. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos adultos apresentaram uma tendência positiva ao longo do tempo, também se afastando dos valores das crias.

Comparação da dieta entre machos e fêmeas

Este é o primeiro estudo a investigar uma potencial segregação sexual na dieta dos rolieiros. Uma vez que não existe dimorfismo sexual marcado nos rolieiros e que machos e fêmeas tendem a utilizar as mesmas áreas e poisos de caça, não é possível a partir das técnicas tradicionais (observação direta da alimentação e análise de regurgitações) determinar a dieta de machos e fêmeas separadamente. Assim, a análise dos isótopos estáveis é a técnica mais eficiente para determinar potenciais diferenças no regime alimentar entre estes grupos. Embora não se tenham detetado diferenças estatisticamente significativas entre estes grupos, as fêmeas apresentaram um nicho isotópico mais amplo que o dos machos, sugerindo que podem alimentar-se de uma maior diversidade de presas. Na maioria dos casos, a segregação da dieta a nível sexual deve-se a diferenças morfológicas (tamanho corporal/ asa/ bico) que levam os diferentes grupos a explorarem nichos alimentares diferentes (Catry, Phillips e Croxall, 2006). Uma vez que não existe dimorfismo sexual nos rolieiros, uma potencial segregação sexual na dieta poderia ser explicada por diferenças nos requisitos energéticos entre machos e fêmeas no período de pré-postura. De um modo geral, para as fêmeas, o período de produção dos ovos é muito exigente em termos energéticos (Kendeigh, 1941). Neste período, e por vezes ainda durante a incubação, as fêmeas de rolieiro são alimentadas pelos machos (Sosnowski e Chmielewski, 1996). Em várias espécies, quando os machos alimentam as fêmeas, tendencialmente escolhem presas com maior valor energético, o que pode originar segregação sexual na dieta neste período (Catry *et al.*, 2016b; Nuechterlein e Storer, 1989). Com efeito, este comportamento foi verificado no peneireiro-das-torres na presente área de estudo, em que os machos alimentam preferencialmente as fêmeas com ralos *Gryllotalpa gryllotalpa*, presas de grande dimensão e elevado conteúdo energético (Catry *et al.*, 2016b). Neste caso, existe uma forte associação com o consumo destas presas pelas fêmeas, tamanho da postura e dos ovos (Catry, Franco e Sutherland, 2011). Esta presa ocorre com abundância no período de pré-postura e incubação do peneireiro-das-torres que decorre de março a abril (Kostrzewa e Kostrzewa, 2008), sendo altamente associada a habitats húmidos e de baixas temperaturas. No presente estudo, concluiu-se que os ralos são presas pouco frequentes na dieta dos rolieiros. Este resultado poderá dever-se ao facto do período de incubação nesta espécie ser mais tardio do que no peneireiro-das-torres e esta presa já não existir em abundância nesse período em que as temperaturas começam a aumentar, a humidade relativa do ar e a precipitação a diminuir.

Comparação dos resultados das diferentes técnicas utilizadas para caracterização da dieta de adultos e crias de rolieiro

De uma forma global, o padrão da dieta de adultos e crias evidenciado na análise de regurgitações e registo vídeo, respetivamente, é corroborado pela análise de isótopos estáveis. O facto do rolieiro se alimentar de uma grande variedade de presas, diminui a capacidade discriminatória deste tipo de modelos matemáticos, sendo assim necessário agrupar certos grupos de espécies com assinaturas próximas ou que pertençam à mesma guilda ecológica. Este menor poder discriminatório poderá explicar algumas diferenças encontradas nas estimativas de consumo de determinadas presas entre

metodologias. Com efeito, o modelo SIAR não demonstrou ser eficaz na atribuição das proporções dos grupos *Bubas* sp. e *Chrysolina bankii* na dieta do rolieiro, embora sendo bastante frequentes nas regurgitações e ocorrerem em grande número. Este resultado poderá dever-se ao facto do número de amostras destas espécies para elaboração do modelo ser pequeno. No entanto, verificou-se concordância a nível das proporções nos restantes grupos quando comparados com as regurgitações, concluindo que as presas mais representativas da dieta dos adultos são os coleópteros. Da mesma forma, os resultados dos vídeos de identificação do alimento das crias corroboram os resultados da análise de isótopos estáveis, sendo que a dieta das crias é constituída maioritariamente por gafanhotos.

Taxas de visitação/ alimentação

Em relação às taxas de visitação aos ninhos ao longo do período de alimentação das crias, os resultados deste estudo demonstram que os ninhos foram visitados ao longo do dia desde o nascer do sol até ao início da noite, não existindo padrões diários marcados e consistentes entre ninhos. Os padrões diários de visitas por ninho foram muito variáveis mesmo quando comparados os dois dias de amostragem do mesmo ninho. Existe alguma diversidade nos padrões de visitação diários em diferentes espécies de aves, sendo que algumas espécies seguem um padrão de visitação bimodal (visitando o ninho com maior frequência no início da manhã e fim da tarde), outras apresentam um pico de visitação a meio da tarde ou no início da manhã seguido de um declínio ao longo do dia (Low *et al.*, 2008). Para alguns ninhos observou-se a existência de picos de visitação intercalados de baixas na frequência de visitação, podendo os progenitores preferir alimentar as crias intensamente durante um período de tempo e posteriormente alimentarem-se a si mesmos durante o período seguinte.

Não se observou uma relação significativa entre a idade das crias e o número de visitas o que poderá indicar que de um modo geral, a frequência de visitação não reflete a variação das necessidades energéticas das crias ao longo do seu desenvolvimento. Verificou-se existir um maior número de visitas por parte dos progenitores em ninhos com maior número de crias, no entanto, o número de visitas por cria foi menor em ninhadas maiores. O comportamento de aumentar o número de visitas com o tamanho da ninhada ocorre em diversas espécies de aves passeriformes e do mesmo modo que acontece no rolieiro, crias de ninhadas maiores recebem, em média, menos alimento do que crias de ninhadas mais pequenas (Moreau, 1947).

O número de visitas poderá depender de vários fatores, tal como a capacidade dos progenitores intercalarem a sua alimentação com a alimentação das crias, mas principalmente com a disponibilidade do alimento preferencial na área. Sabe-se que o rolieiro sendo um “*central place forager*” não se afasta muito do ninho e caça num *range* médio de 274.2 ± 77.9 metros (Catry *et al.*, 2016a), logo a maior parte das presas entregues às crias distribui-se nessa área.

Outro fator a ter em conta na análise das taxas de visitação aos ninhos é a biomassa das presas que compõem a dieta das crias. Embora sendo composta maioritariamente por gafanhotos, a dieta das crias também contém outros insetos de menores dimensões, nomeadamente escaravelhos. O facto destas presas apresentarem biomassas tão distintas alerta para o facto de que a taxa de visitação/ alimentação por si só pode não refletir o *intake* energético das crias, sendo necessário avaliar a biomassa das presas entregues às crias.

O uso de câmeras *timelapse* foi indispensável para a realização deste estudo, uma vez que estas câmeras apresentam uma grande autonomia, sendo possível filmar por longos períodos. No entanto, a grande desvantagem do uso destas câmeras para esta espécie foi o facto destas possuírem uma *frame rate* relativamente baixa (1 *frame* por segundo) sendo impossível captar na maior parte das vezes o que os progenitores levavam no bico, uma vez que entravam rapidamente nos ninhos.

5. Considerações finais

Perspetivas futuras

De forma a complementar este estudo visando a ecologia alimentar do rolieiro, seria importante recorrer novamente a análise de vídeo de maneira a observar o comportamento de *mate feeding*, uma vez que a abordagem isotópica revelou diferenças nos nichos isotópicos de machos e fêmeas, sugerindo a existência de uma maior diversidade de presas na dieta das fêmeas. Do mesmo modo, seria interessante analisar o efeito do sexo dos progenitores na taxa de alimentação de crias e tipo de presa entregue. Em certas espécies de aves em que ambos os progenitores entregam as presas às crias existem diferenças a nível do tamanho de presas entregues e no número de visitas (Wright e Cuthill, 1990). Em particular, no caso do gavião da Europa *Accipiter nisus* (Linnaeus, 1758), verifica-se que os machos ao longo do período de desenvolvimento das crias diminuem a frequência de visita por hora, enquanto que nas fêmeas ocorre o contrário (Geer, 1981).

Por último, é importante no futuro realizar um levantamento das espécies de insetos de Castro Verde e monitorizar a dinâmica das presas de rolieiro em termos de abundância e diversidade nos diversos micro-habitats existentes de forma a compreender potenciais alterações no regime e preferências alimentares desta espécie.

Implicações para a conservação

Os resultados deste estudo permitiram, pela primeira vez, caracterizar a dieta do rolieiro em Portugal. A dieta dos adultos, embora dominada por coleópteros, é composta por uma grande diversidade de espécies e de grupos funcionais, refletindo a diversidade de habitats que caracterizam o mosaico da paisagem pseudoestepária. O facto dos rolieiros serem maioritariamente insetívoros, torna-os altamente vulneráveis aos inseticidas e fertilizantes utilizados na agricultura. Estes produtos têm efeitos negativos nas aves, indiretamente por reduzirem o número de presas e aumentarem o tempo de procura de alimento, culminando num maior custo energético, (p.e num contexto de alimentação de crias, poderá levar à morte das crias) como diretamente, podendo provocar deficiências a nível embrionário, deformações nos ossos e morte precoce das crias dentro dos ovos (Boatman *et al.*, 2004). Por outro lado, a intensificação da agricultura por meios de transformação dos terrenos em monoculturas também reduz a diversidade de presas, uma vez que reduz drasticamente os diferentes nichos ecológicos em que os insetos ocorrem (De Frutos, Olea e Mateo-Tomás, 2015). Embora estas ameaças estejam previamente documentadas e tenham um grande impacto nas espécies de aves em geral, a área de estudo é caracterizada por uma agricultura de baixa intensidade e com longas extensões de terrenos em pousio. Este tipo de terreno alberga uma grande diversidade de invertebrados (Traba *et al.*, 2007), incluindo uma maior abundância de gafanhotos em relação aos outros tipos de terreno presentes, sendo zonas preferenciais de caça dos rolieiros (Catry *et al.*, 2016a). No entanto, embora a região de Castro Verde apresente uma agricultura de baixa intensidade, depara-se com problemas tais como: a transformação das zonas agrícolas em florestas de monoculturas (p.e. eucaliptais e pinhais); abandono agrícola, que leva a uma transformação de uma paisagem inicialmente composta por herbáceas pouco desenvolvidas a zonas de matos, diminuindo o acesso às presas (Moreira, 1999).

Este estudo permitiu enriquecer o conhecimento sobre a ecologia alimentar do rolieiro, demonstrando a existência de segregação na dieta entre adultos e crias. Este conhecimento é importante para o delineamento futuro de estratégias de gestão e conservação apropriadas a cada grupo da espécie.

6. Referências bibliográficas¹

- Alonso, H., Granadeiro, J., Paiva, V., Dias, A., Ramos, J. & Catry, P. (2012). Parent–offspring dietary segregation of Cory’s shearwaters breeding in contrasting environments. *Mar. Biol.* **159**, 1197–1207.
- Avilés, J., & Parejo, D. (1997). Dieta de los pollos de Carraca (*Coracias garrulus*) en una zona mediterránea. *Ardeola* **44**, 235-237.
- Beaulieu, M. & Sockman, K. (2014). Comparison of optimal foraging versus life-history decisions during nestling care in Lincoln’s Sparrows *Melospiza lincolnii* through stable isotope analysis. *Ibis* **156**, 424–432.
- BirdLife International. 2017. *Coracias garrulus*. (amended version published in 2016) The IUCN Red List of Threatened Species 2017: eT22682860A111884908. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-1.RLTS.T22682860A111884908.en>. Downloaded on 17 October 2017.
- Boatman, N., Brickle, N., Hart, J., Milsom, T., Morris, A., Murray, A., Murray, K. & Robertson, P. (2004). Evidence for the indirect effects of pesticides on farmland birds. *Ibis* **146**, 131-143.
- Bolnick, D., Svanbäck, R., Fordyce, J., Yang, L., Davis, J., Hulsey, C. & Forister, M. (2003). The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. *The American Naturalist* **161**, 1-28.
- Bouma, J., Varallyay, G. & Batjes, N. (1998). Principal land use changes anticipated in Europe. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **67**, 103-119.
- Bouvier, J., Muller, I., Génard, M., Lescourret, F. & Lavigne, C. (2014). Nest-Site and Landscape Characteristics Affect the Distribution of Breeding Pairs of European Rollers *Coracias garullus* in an Agricultural Area of Southeastern France. *Acta Ornithologica* **49**, 23-32.
- Cabral, M., Almeida, J., Almeida, P., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M., Palmeirim, J., Queiroz, A., Rogado, L. & Santos-Reis, M. (2006). *Livro vermelho dos vertebrados de Portugal*. 2ªed. Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza/ Assírio e Alvim
- Cassola, F. & Lovari, S. (1979). Food habits of Rollers during the nesting season. *Bolletino di zoologia* **46**, 87-89.
- Catry, I., Amano, T., Franco, A. & Sutherland, W. (2011)a. Influence of spatial and temporal dynamics of agricultural practices on the lesser kestrel. *Journal of Applied Ecology* **49**, 99-108.
- Catry, I., Franco, A. & Moreira, F. (2014). Easy but ephemeral food: exploring the trade-offs of agricultural practices in the foraging decisions of Lesser Kestrels on farmland. *Bird Study* **61**, 447-456.
- Catry, I., Franco, A. & Sutherland, W. (2011). Landscape and weather determinants of prey availability: implications for the Lesser Kestrel *Falco naumanni*. *Ibis* **154**, 111-123.

¹ Referências bibliográficas segundo as normas da revista científica *Journal of Zoology*.

- Catry, I., Silva, J. P., Cardoso, A., Martins A., Delgado, A., Sanches A.R & Leitão D. (2011)b. Distribution and population trends of the European Roller in pseudo-steppe areas of Portugal: results from a census in sixteen SPAs and IBAs. *Airo* **21**, 3-14.
- Catry, I., Catry, T., Granadeiro, J., Franco, A. & Moreira, F. (2014). Unravelling migration routes and wintering grounds of European rollers using light-level geolocators. *Journal of Ornithology* **155**, 1071-1075.
- Catry, I., Catry, T., Alho, M., Franco, A. & Moreira, F. (2016)b. Sexual and parent-offspring dietary segregation in a colonial raptor as revealed by stable isotopes. *Journal of Zoology* **299**, 58-67.
- Catry, I., Marcelino, J., Franco, A. & Moreira, F. (2016)a. Landscape determinants of European roller foraging habitat: implications for the definition of agri-environmental measures for species conservation. *Biodiversity and Conservation* **26**, 553-566.
- Catry, P., Phillips, R., & Croxall, J. (2006). Sexual segregation in birds: patterns, processes and implications for conservation in *Sexual segregation in vertebrates: ecology of the two sexes*, 351-378. Ruckstuhl, K.E. & Neuhaus, P. (Eds). Cambridge: Cambridge University Press.
- Caut, S., Angulo, E. & Courchamp, F. (2009). Variation in discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *J. Applied Ecol.* **46**, 443–453.
- De Frutos, A., Olea, P. & Mateo-Tomás, P. (2015). Responses of medium- and large-sized bird diversity to irrigation in dry cereal agroecosystems across spatial scales. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **207**, 141-152.
- Deniro, M. & Epstein, S. (1981). Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **45**, 341-351.
- Donald, P., Green, R. & Heath, M. (2001). Agricultural intensification and the collapse of Europe's farmland bird populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **268**, 25-29.
- Errington, P. (1930). The Pellet Analysis Method of Raptor Food Habits Study. *The Condor* **32**, 292-296.
- Forero, M., Hobson, K., Bortolotti, G., Donazar, J., Bertellotti, M. & Blanco, G. (2002). Food resource utilisation evaluated through stable-isotope analysis: segregation by sex and age and influence on offspring quality. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **234**, 289–299.
- Friard, O. & Gamba, M. (2016). BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution* **7**, 1325-1330.
- Friedlander, G. (1981). *Nuclear and radiochemistry*. New York: John Wiley & Sons.
- Fridolfsson, A. & Ellegren, H. (1999). A Simple and Universal Method for Molecular Sexing of Non-Ratite Birds. *Journal of Avian Biology* **30**, 116.

- Fry, C., Fry, K. & Harris, A. (2010). *Kingfishers, bee-eaters and rollers*. London: Christopher Helm.
- Galante, E., Mena, J. & Lumberras, C. (1995). Dung Beetles (Coleoptera: Scarabaeidae, Geotrupidae) Attracted to Fresh Cattle Dung in Wooded and Open Pasture. *Environmental Entomology* **24**, 1063-1068.
- Gameiro J. (2015). Evolução do habitat de aves estepárias no Sudoeste da Península Ibérica no contexto de um ambiente em mudança. Master thesis dissertation. Faculty of Science, University of Lisbon, Portugal.
- Gannes, L., O'Brien, D. & del Rio, C. (1997). Stable Isotopes in Animal Ecology: Assumptions, Caveats, and a Call for More Laboratory Experiments. *Ecology* **78**, 1271.
- Garrido, J. (1997). La alimentación de *Myotis myotis* Borkh, 1797 (Chiroptera, Vespertilionidae) en la cuenca del río Guadix (Surueste de España). *Acta Vertebrata* **24**, 27-38
- Geer, T. (1981). Factors affecting the delivery of prey to nestling Sparrowhawks (*Accipiter nisus*). *Journal of Zoology* **195**, 71-80.
- Gregory, R., Vorisek, P., Van Strien, A., Gmelig Meyling, A., Jiguet, F., Fornasari, L., Reif, J., Chylarecki, P. & Burfield, I. (2007). Population trends of widespread woodland birds in Europe. *Ibis* **149**, 78-97.
- Henle, K., Alard, D., Clitherow, J., Cobb, P., Firbank, L., Kull, T., McCracken, D., Moritz, R., Niemelä, J., Rebane, M., Wascher, D., Watt, A. & Young, J. (2008). Identifying and managing the conflicts between agriculture and biodiversity conservation in Europe—A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **124**, 60-71.
- Hilderbrand, G., Farley, S., Robbins, C., Hanley, T., Titus, K. & Servheen, C. (1996). Use of stable isotopes to determine diets of living and extinct bears. *Canadian Journal of Zoology* **74**, 2080-2088.
- Hobson, K., Alisauskas R. & Clark, R. (1992). Stable-nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: implications for isotopic analyses of diet. *Condor* **95**, 388-394.
- Hobson, K., & Wassenaar, L. (2008). *Tracking animal migration with stable isotopes* (Vol. 2). Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Jackson, A., Inger, R., Parnell, A. & Bearhop, S. (2011). Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology* **80**, 595-602.
- Jankielsohn A. (2006). The effect of habitat change on the structure of dung beetle assemblages in the north-eastern free state: a comparison of conserved and farmed land. Doctoral thesis dissertation. Faculty of Science of the University of Pretoria, South Africa
- Karasov, W. (1990). Digestion in birds: chemical and physiological determinants and ecological implications. *Studies in avian biology* **13**, 1-4.

Kendeigh, S. (1941). Length of Day and Energy Requirements for Gonad Development and Egg-Laying in Birds. *Ecology* **22**, 237-248.

Kostrzewa, A. & Kostrzewa, R. (1990). The relationship of spring and summer weather with density and breeding performance of the Buzzard *Buteo buteo*, Goshawk *Accipiter gentilis* and Kestrel *Falco tinnunculus*. *Ibis* **132**, 550-559.

Kovacs, A., Barov, B., Orhun C. & Gallo-Orsi U. (2008). International species action plan for the European roller *Coracias garrulus garrulus*. MME/BirdLife Hungary and BirdLife International for the European Commission.

Layman, C., Araujo, M., Boucek, C., Hammerschlag-Peyer M., Harrison E., Jud Z. & Post D. (2012). Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews* **87**, 545-562.

Lewis, S., Fuller, M. & Titus, K. (2004). A comparison of 3 methods for assessing raptor diet during the breeding season. *Wildlife Society Bulletin* **32**, 373-385.

Logan, J., Jardine, T., Miller, T., Bunn, S., Cunjak, R. & Lutcavage, M. (2008). Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: comparison of chemical extraction and modelling methods. *Journal of Animal Ecology* **77**, 838-846.

Longmire, J., Maltbie, M. & Baker, R. (1997). Use of " lysis buffer" in DNA isolation and its implication for museum collections. *Occasional Papers, The Museum of Texas Tech University* **163**, 1–3

Low, M., Eggers, S., Arlt, D. & Pärt, T. (2008). Daily patterns of nest visits are correlated with ambient temperature in the Northern Wheatear. *Journal of Ornithology* **149**, 515-519.

Martin, T. (1987). Food as a limit on breeding birds: A Life-History Perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**, 453-487.

Moreau, R. (1947). Relations between Number in Brood, Feeding-Rate and Nestling Period in Nine Species of Birds in Tanganyika Territory. *The Journal of Animal Ecology* **16**, 205.

Moreby, S. & Stoate, C. (2000). A quantitative comparison of neck-collar and faecal analysis to determine passerine nestling diet. *Bird Study* **47**, 320-331.

Moreira, F. (1999). Relationships between vegetation structure and breeding bird densities in fallow cereal steppes in Castro Verde, Portugal. *Bird Study* **46**, 309-318.

Newton, I. (2002). The Role of Food in Limiting Bird Numbers. *Ardea* **68**, 11-30.

Noordwijk, A., McCleery, R. & Perrins, C. (1995). Selection for the Timing of Great Tit Breeding in Relation to Caterpillar Growth and Temperature. *The Journal of Animal Ecology* **64**, 451.

Nour, N., Currie, D., Matthysen, E., Van Damme, R., & Dhondt, A. (1998). Effects of habitat fragmentation on provisioning rates, diet and breeding success in two species of tit (great tit and blue tit). *Oecologia* **114**, 522-530.

- Nuechterlein, G. & Storer, R. (1989). Mate Feeding by Western and Clark's Grebes. *The Condor* **91**, 37-42.
- Oksanen, J., Blanchet, G., Friendly M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P., O'Hara, P., Simpson, G., Solymos, P., Stevens, M., Szoecs, E. & Wagner H. (2017). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-3.
- Pain, D. & Pienkowski, M. (1997). *Farming and birds in Europe*. San Diego, CA: Academic Press.
- Parnell, A., Inger, R., Bearhop, S. & Jackson, A. (2008). SIAR: stable isotope analysis in R.
- Phillips, D. & Gregg, J. (2003). Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* **136**, 261-269.
- Ponsard, S. & Ardit, R. (2000). What Can Stable Isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) Tell about the Food Web of Soil Macro-Invertebrates?. *Ecology* **81**, 852-864.
- Preston, T. & Owens, N. (1983). Interfacing an automatic elemental analyser with an isotope ratio mass sepectrometer: the potential for fully automated total nitrogen and nitrogen-15 analysis. *The Analyst* **108**, 971.
- Price, T. (1987). Diet Variation in a Population of Darwin's Finches. *Ecology* **68**, 1015-1028.
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ribeiro, S., Fernandes, J. & Espírito-Santo, M. (2014). Diversity and floristic patterns of mediterranean grasslands: the relative influence of environmental and land management factors. *Biodiversity and Conservation* **23**, 2903-2921.
- Rodríguez-Ruiz, J., de la Puente, J., Parejo, D., Valera, F., Calero-Torralbo, M., Reyes-González, J., Zajková, Z., Bermejo, A. & Avilés, J. (2014). Disentangling Migratory Routes and Wintering Grounds of Iberian Near-Threatened European Rollers *Coracias garrulus*. *PLoS ONE* **9**, e115615.
- Royama, T. (1966). Factors governing feeding rate, food requirement and brood size of nestling Great Tits *Parus major*. *Ibis* **108**, 313-347.
- Salamolard, M., Butet, A., Leroux, A. & Bretagnolle, V. (2000). Responses of an Avian Predator to Variations in Prey Density at a Temperate Latitude. *Ecology* **81**, 2428.
- Schoener, T. (1979). Generality of the Size-Distance Relation in Models of Optimal Feeding. *The American Naturalist* **114**, 902-914.
- Shrubb, M. (2012). *Birds, scythes and combines*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Sosnowski, J., & Chmielewski, S. (1996). Breeding biology of the roller *Coracias garrulus* in Puszcza Pilicka forest (Central Poland). *Acta ornithologica* **31**, 119-131.

- Starck, J. & Ricklefs, R. (1998). *Avian growth and development*. New York: Oxford University Press.
- Sziji, J. (1958) Beiträge zur Nahrungsbiologie der Blauracke in Ungarn. *Zool. Beitr.* **9**, 25–39.
- Traba, J., Morales, M., García de la Morena, E., Delgado, M. & Krištín, A. (2007). Selection of breeding territory by little bustard (*Tetrax tetrax*) males in Central Spain: the role of arthropod availability. *Ecological Research* **23**, 615-622.
- Tucker, B. (1944). The ejection of pellets by passerine and other birds. *Brit. Birds* **38**, 50-52.
- Tucker, G. (1997). Priorities for bird conservation in Europe: the importance of the farmed landscape. In *Farming and Birds in Europe: The Common Agricultural Policy and its Implications for Bird Conservation*: 79-116. Pain, D. e Pienkowski, M. (Eds). San Diego, CA: Academic Press.
- Václav, R., Calero-Torralbo, M. & Valera, F. (2008). Ectoparasite load is linked to ontogeny and cell-mediated immunity in an avian host system with pronounced hatching asynchrony. *Biological Journal of the Linnean Society* **94**, 463-473.
- Weathers, W. (1992). Scaling nestling energy requirements. *Ibis* **134**, 142-153.
- Wolff, A., Paul, J., Martin, J. & Bretagnolle, V. (2002). The benefits of extensive agriculture to birds: the case of the little bustard. *Journal of Applied Ecology* **38**, 963-975.
- Wright, J. & Cuthill, I. (1990). Manipulation of sex differences in parental care: the effect of brood size. *Animal Behaviour* **40**, 462-471.
- Zduniak, P. (2005). Forced regurgitation with tartar emetic as an effective and safe method to study diet composition in hooded crow nestlings. *European Journal of Wildlife Research* **51**, 122-125.

7. Anexos

Anexo 2.2.1. Número de regurgitações recolhidas e respetiva localização.

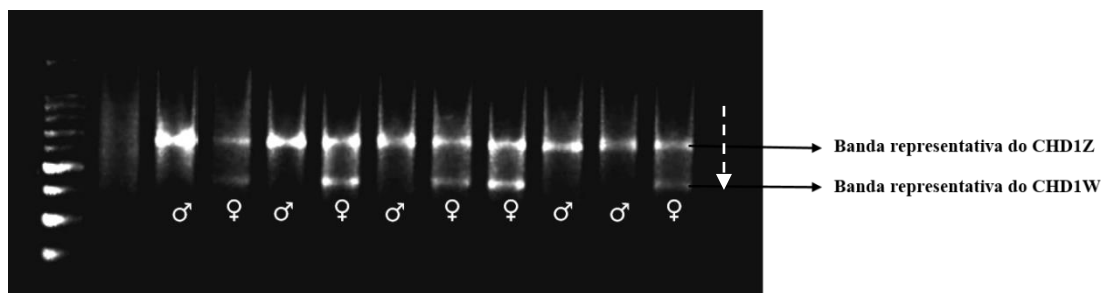
| Local de nidificação (n=18) | Nº regurgitações (n=84) |
|-----------------------------|-------------------------|
| Álamo | 13 |
| Belver | 19 |
| Bispos | 1 |
| Boisão | 3 |
| Carvoeira | 3 |
| Chaminé Camacho | 1 |
| Lagoa da Mó | 1 |
| Mestras | 2 |
| Montel | 1 |
| Mosquetana | 8 |
| Olival do Pequeno | 9 |
| Parede Belver | 3 |
| Parede Belver II | 3 |
| Parede São Marcos | 1 |
| Parede Vale Gonçalves | 4 |
| Pequeno | 3 |
| Posto Experimental | 9 |

Anexo 2.2.2. Presas potenciais recolhidas em 2016 e 2017 para posterior estimativa de biomassa.

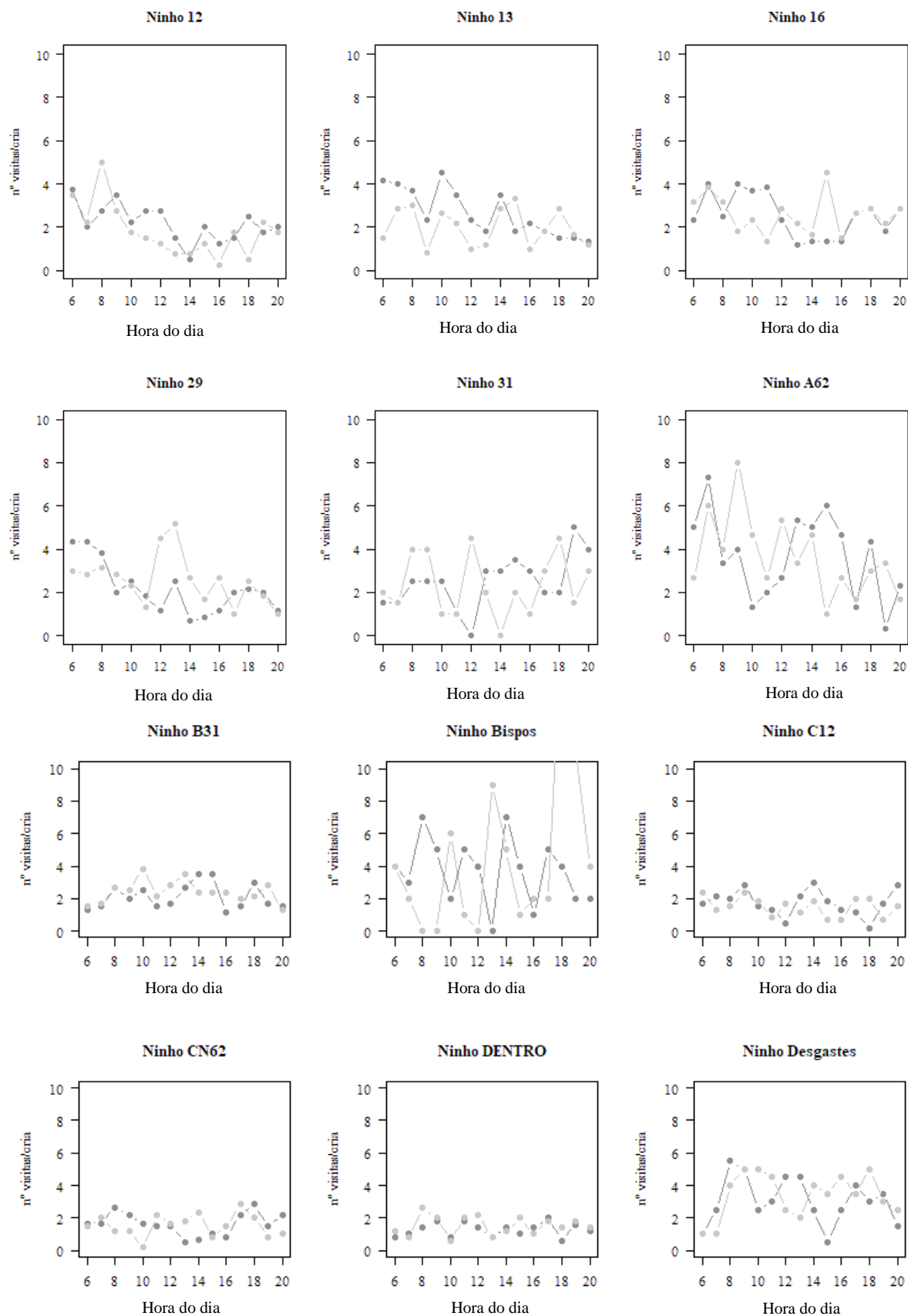
| Presa | Nº indivíduos |
|---|---------------|
| Orthoptera | |
| Tettigoniidae <i>Decticus</i> sp. | 6 |
| Tettigoniidae <i>Tettigonia viridissima</i> | 4 |
| Acrididae não identificado | 22 |
| Coleoptera | |
| <i>Amphimallon nigrum</i> | 12 |
| <i>Bubas</i> sp. | 3 |
| <i>Cheironitis</i> sp. | 1 |
| <i>Chrysolina bankii</i> | 6 |
| <i>Copris hispanicus</i> | 1 |
| <i>Onitis Belial</i> | 1 |
| <i>Onitis ion</i> | 1 |
| <i>Protaetia morio</i> | 1 |
| <i>Pterostichus globosus ebenus</i> | 5 |
| <i>Sepidium</i> sp. | 2 |
| <i>Tentyria</i> sp. | 4 |
| Curculionídeos não-identificados | 3 |

Anexo 2.5.1. Ninhos amostrados para determinação da dieta das crias e a sua localização.

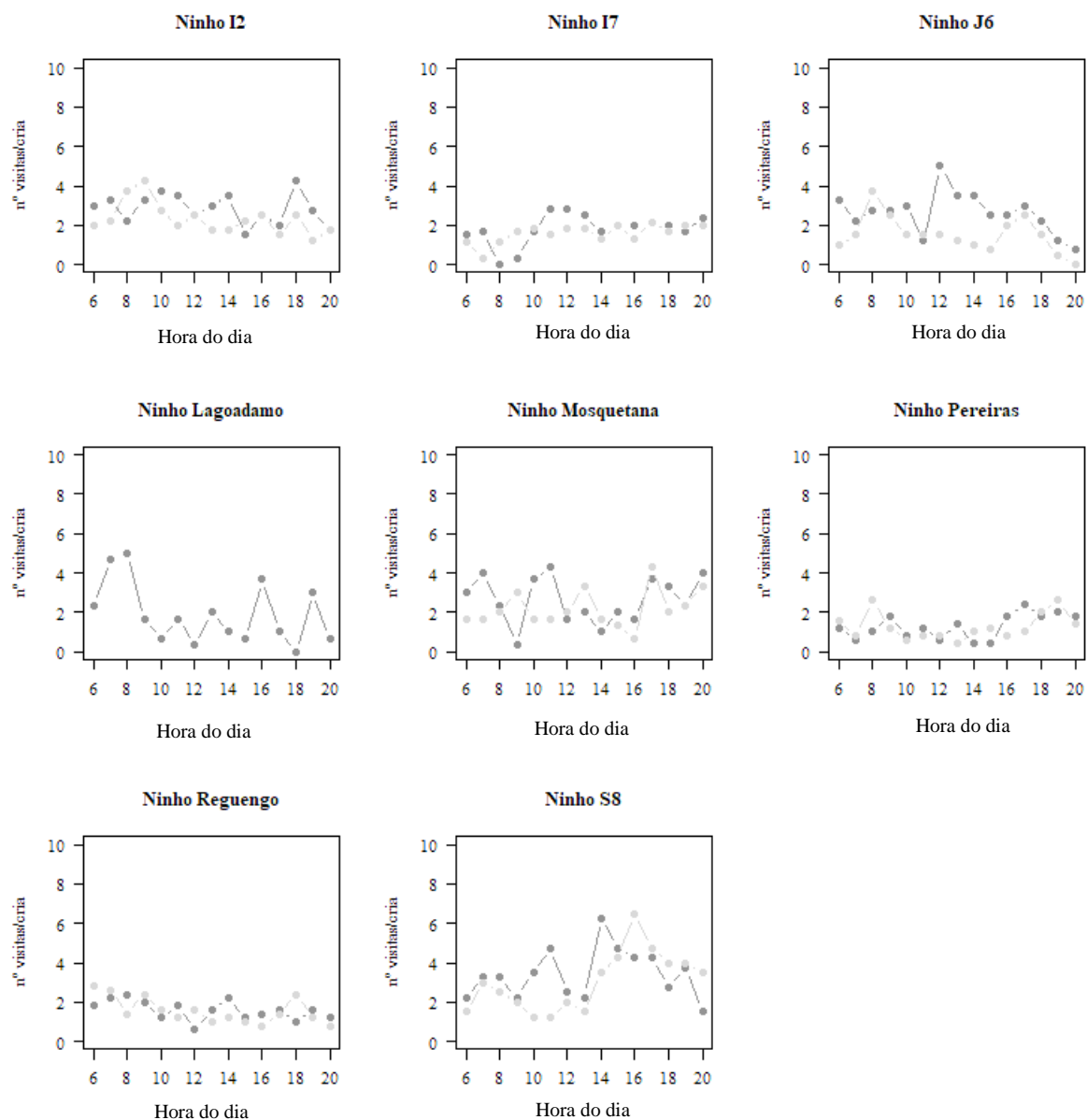
| Local | Ninho | Nº filmagens | Período de filmagem |
|--------------------|-------|--------------|---------------------------|
| Álamo | 67 | 2 | Manhã/ Meio dia |
| Álamo | 40 | 3 | Meio dia/ Manhã/ Manhã |
| Álamo | C31 | 1 | Tarde |
| Belver | C30 | 2 | Manhã/ Sem informação |
| Belver | D7 | 1 | NA |
| Bispos | C11 | 1 | NA |
| Casével | NA | 3 | Manhã/Manhã/NA |
| Mestras | A35 | 1 | Manhã |
| Mestras | A64 | 1 | Manhã |
| Olival do Pequeno | CN12 | 1 | Manhã |
| Parede Belver | 8 | 3 | Manhã/Manhã/NA |
| Parede Belver II | 51 | 1 | NA |
| Parede Casével | 43 | 2 | Manhã/ Manhã |
| Parede Casével | 76 | 2 | Manhã/Manhã |
| Posto Experimental | R0 | 4 | Manhã/Manhã/Manhã/ Tarde |
| Posto Experimental | R2 | 4 | Manhã/Manhã/ Tarde/ Tarde |
| Portela | R1 | 1 | Tarde |
| Boisão | B51 | 1 | NA |
| Pereiras | E1 | 1 | Tarde |



Anexo 2.6.1. Eletroforese de DNA amplificado em gel de agarose. Na primeira *lane* está apresentada uma escada com bandas de comprimento conhecido, na segunda *lane* o negativo e nas restantes as amostras com os genes CHD1Z e CHD1W amplificados. A seta a tracejado indica a direção da corrida.



Anexo 3.5.1 Padrões de visitação (número de visitas por cria e por hora) diários ao ninho por rolieiros adultos durante o período de alimentação das crias. Para cada ninho foram efectuados dois dias de amostragem.



Anexo 3.5.1. CONTINUAÇÃO. Padrões de visitação (número de visitas por cria e por hora) diários ao ninho por rolieiros adultos durante o período de alimentação das crias. Para cada ninho foram efetuados dois dias de amostragem.